



Gobierno
Bolivariano
de Venezuela

Ministerio del Poder Popular
para la **Agricultura y Tierras**

Instituto Nacional de **Investigaciones Agrícolas**

omía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

**Agronomía
Tropical**

Depósito Legal: pp. 195102AR73
ISSN: 0002 - 192X
AÑO 61 VOL. 61 No. 1 2011

AGRONOMÍA
TROPICAL
Agronomía Trop

Revista trimestral del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas
Maracay, Venezuela

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS

AUTORIDADES

Yván Gil Pinto
PRESIDENTE

Orlando Moreno
GERENTE GENERAL

Jonathan Coello
GERENTE DE PRODUCCIÓN SOCIAL

Margaret Gutiérrez
GERENTE DE INVESTIGACIÓN e INNOVACIÓN TECNOLÓGICA

FUNDADORES (AS)

Luis Medina (Dir.), Bruno Mazzani†, W. S. Iljin, Rafael Pontis Videla, Jesús Silva Calvo, Gino Malagutti, Guisepppe Ravello, Luis A. Salas F., S. Horovitz, P. Obregón y Dora M. de Zerpa.

COORDINACIÓN EDITORIAL

Tatiana Pugh
EDITORA JEFE

Ninfa Monasterios
EDITORA ASISTENTE

María Escalona
EDITORA TÉCNICA

Ana Bolívar
SECRETARIA

Carmen Solórzano
DIAGRAMADORA

EDITORES (AS) ASOCIADOS (AS)

Abarca, Oscar. ACAV
Acevedo, Marco. INIA
Brito, Julia. INIA
Cásares, Marjorie. UCV

Gutiérrez, Margaret. INIA
Ortiz, Aida. UCV
Pérez, Delis. INIA
Velásquez, Lorenzo. INIA

COMITÉ EDITORIAL

Iván Gil
Margaret Gutiérrez

Orlando Moreno
Tatiana Pugh

CONSEJO DE REDACCIÓN

Aparecido, Rodrigo. ESA. Brasil
Baldizán, Alfredo. UNERG
Borroto, Omelio. ICA. Cuba
Cadenas, Maryorie. FUNDACITE
Centeno, Ángel. UCV
Colmenares, Griselda. UCV
Comerma, Juan. INIA
Daiuto, Erika. UNESP. Brasil
De Freitas, Elías. EMBRAPA. Brasil
Díaz, Daniel. INTA. Argentina
Fuch, Morela. INIA
Garea, Bárbara. INSTEC. Cuba
Gil, Freddy. UCV
Hidalgo, Carlos. INIA
Kosky, Rafael. IBP. Cuba
Marín, Merilyn. INIA
Martínez, Siomara. CENSA. Cuba

Méndez, Jesús. UDO
Montilla, Joan. INIA
Núñez, Mauricio. ACAV
Ordosgoitti, Alfonso. INIA
Ormeño, Mariangélica. INIA
Perozo, José. INIA
Quijada, Osmar. INIA
Rengifo, Oscar. UNERG
Rodríguez, Iraida. INIA
Rojas, Thamara. INIA
Romero, Alfredo. INIA
Salazar, Margelys. INIA
Sánchez, Iris. INIA
Silva, Iris. INIA
Tablada, Lydia. CENSA. Cuba
Vergara, Juan. INIA
Vivas, Luis. INIA

TABLA DE CONTENIDO

Artículos:	Pág.
APONTE, H., J. PAOLINI y J. P. MOGOLLÓN. Efecto del cují asociado al cultivo de sábila sobre las propiedades bioquímicas de un suelo del semiárido falconiano..... Effect of cují associated with aloe on the soil biochemical properties in semiarid regions of Falcon State.	5
ACEVEDO B., M. A., M. SALAZAR, W. A. CASTRILLO FUENTES, O. J. TORRES ANGARITA, E. R. REYES RAMONE, M. NAVAS, R. M. ÁLVAREZ PARRA, O. J. MORENO y E. TORRES TORO. Efectos de la densidad de siembra y fertilización nitrogenada sobre el rendimiento de granos de arroz del cultivar CENTAURO en Venezuela..... Effects of planting density and nitrogen fertilization on the grain yield of rice cultivar CENTAURO in Venezuela.	15
ALVEZ, B., J. CARBALLO, G. ALONSO y M. OROPEZA. Diagnóstico molecular de <i>Xanthomonas albilineans</i> (Ashby) Dowson en Venezuela, agente causal de la escaldadura foliar de la caña de azúcar..... Molecular diagnosis of <i>Xanthomonas albilineans</i> (Ashby) Dowson in Venezuela, the causal agent of leaf scald of sugarcane.	27
RENGEL, M., F. GIL y J. MONTAÑO. Efecto del tratamiento de semilla con zinc y ácido giberélico sobre la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas de caña de azúcar..... Effect of seed treatment with zinc and gibberellic acid on the emergency and initial growth of sugarcane plants.	37
FARALDO, M. L., G. T. VERGARA, G. A. CASAGRANDE, J. P. ARNAIZ, H. MIRASSON y C. FERRERO. Eficiencia en el uso del agua y radiación en maíz, girasol y soja, en la región oriental de La Pampa, Argentina..... Efficiency of water and radiation use in maize, sunflower and soybean, in the oriental region of La Pampa, Argentina.	47
MONASTERIO, P. P., F. PIERRE, T. BARRETO, C. MARÍN, O. MORA, J. TABLANTE, W. MATURET y C. MENDOZA. Influencia del fenómeno El Niño/oscilación del sur sobre la precipitación y rendimiento del cultivo de maíz en el municipio Peña, estado Yaracuy, Venezuela..... El Niño/southern oscillation influence on precipitation and corn yield in El Rodeo, Peña municipality, Yaracuy State, Venezuela.	59
GUTIÉRREZ MULAS, M. y C. A. RINCÓN A. Caracterización de la variabilidad genética mediante el uso de marcadores RAPDs, de un grupo de genotipos nativos y comerciales de caraota en Venezuela..... Characterization of genetic variability using RAPDs markers, in a group of native and commercial genotypes of bean of Venezuela.	73

Trabajo Especial:**Pág.**

ALBARRÁN, J. G., F. FUENMAYOR, M. FUCHS, G. MARTÍNEZ, A. RODRÍGUEZ, E. MANZANILLA, E. DÍAZ, R. LEÓN y M. TORREALBA. Estrategias biotecnológicas para la conservación de germoplasma en el INIA-CENIAP, Venezuela. Caso yuca y musáceas.....	85
Biotechnological strategies for germoplasm conservation in the INIA-CENIAP, Venezuela. Case: cassava and musa.	

Instrucciones a los Autores y Autoras.

EFECTO DEL CUJÍ ASOCIADO AL CULTIVO DE SÁBILA SOBRE LAS PROPIEDADES BIOQUÍMICAS DE UN SUELO DEL SEMIÁRIDO FALCONIANO¹

EFFECT OF CUJI ASSOCIATED WITH ALOE ON THE SOIL BIOCHEMICAL PROPERTIES IN SEMIARID REGIONS OF FALCON STATE¹

Humberto Aponte*, Jorge Paolini** y José Pastor Mogollón*

¹Trabajo financiado por Fundacite Falcón a través del proyecto N° 2010-013.

*Profesores. Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda" (UNEFM). Estado Falcón Venezuela.

**Investigador. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Centro de Ecología. Estado Miranda. Venezuela.
Correo electrónico: titoaponte43@gmail.com; mapire3000@yahoo.com; jmogollon15@gmail.com

RESUMEN

Se evaluó el efecto del cují, *Prosopis juliflora*, asociado al cultivo de sábila, *Aloe vera*, sobre la fertilidad biológica y química de suelos del sector El Cebollal del estado Falcón. Se consideraron dos condiciones de manejo: sábila bajo sombra de cují y sábila a plena exposición solar. Se seleccionaron nueve árboles de cují evaluando los suelos bajo la copa de los mismos (1 y 3 m de la base del árbol) y fuera de la misma (a plena exposición solar). Se determinó: carbono orgánico total (COt), nitrógeno total (Nt), fósforo disponible (Pd), pH, porcentaje de humedad (%H), textura, hidrólisis del diacetato de fluoresceína (DAF), actividad de la deshidrogenasa (AD), fosfatasa alcalina, β -Glucosidasa y ureasa. Los resultados indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Se observó un gradiente con relación al contenido de nutrimentos y a la actividad microbiana, de mayores a menores valores, en la medida en que aumenta la distancia desde la base del árbol hasta la zona de plena exposición solar. Se encontró una alta correlación entre las actividades enzimáticas y los niveles de materia orgánica (MO) del suelo, demostrando la importancia del carbono orgánico en los ecosistemas semiáridos. El cují al encontrarse ampliamente distribuido en el semiárido falconiano y por sus características que le permiten sobrevivir en ecosistemas con condiciones de estrés hídrico, puede actuar como islas de fertilidad, contribuyendo a la salud y calidad del suelo, generando un aporte de MO y nutrimentos bajo la copa del mismo, aumentando el sustrato para la actividad microbiana.

Palabras Clave: *Prosopis juliflora*; *Aloe vera*; cultivos asociados; fertilidad del suelo; materia orgánica; actividad enzimática; zona semiárida.

SUMMARY

The effect of cují, *Prosopis juliflora*, associated with sábila crop, *Aloe vera*, on the biological fertility and chemical properties of soil, at the sector El Cebollal of Falcon State, was evaluated. We considered two management conditions: aloe under cují shade and aloe in full sunlight. Nine cují trees were selected for evaluating soils under the canopy of them (1 and 3 m from the base of the tree) and outside it (full sunlight). Were determined: total organic carbon (TOC), total nitrogen (TN), phosphorus available (Pa), pH, percentage moisture (% H), texture, hydrolysis of fluorescein diacetate (DAF), dehydrogenase activity (AD), alkaline phosphatase, β -Glucosidase and urease. The results indicate statistically significant differences between treatments evaluated. There was a gradient in relation to nutrient content and microbial activity, from greater to lesser values, as the distance increases from the base of the tree to the area of full sunlight. We found a high correlation between enzyme activities and levels of soil organic matter (OM), demonstrating the importance of organic carbon in semiarid ecosystems. Cují are widely distributed in the falconian semiarid area because of characteristics that allow their survival in ecosystems with conditions of water stress, so that can acts as fertility islands, contributing to the health and quality of soil, generating a contribution of OM and nutrients under the canopy of the same and increasing the substrate for microbial activity.

Keys Words: *Prosopis juliflora*; *Aloe vera*; cropping associated; soil fertility; organic matter; enzyme activity; semiarid zone.

RECIBIDO: junio 07, 2011

APROBADO: abril 17, 2012

INTRODUCCIÓN

Las regiones semiáridas, tradicionalmente son vistas como áreas de poca productividad y por lo general están sometidas a usos no amigables con el ambiente (López *et al.*, 2003). En Venezuela, alrededor del 5% del territorio nacional corresponde a las zonas áridas o semiáridas y estos ambientes se consideran como los más susceptibles al proceso de desertificación, siendo poco aptas para el proceso de producción agrícola (García, 1999). Aún así, se debe hacer énfasis en que estas áreas presentan un alto potencial para incrementar la productividad, siempre y cuando se haga un manejo apropiado de sus tierras para lograr sistemas agrícolas sostenibles (Rodríguez, 2002).

Es importante resaltar que para la ejecución de prácticas de manejo conservacionistas, es necesario generar modelos alternativos de producción que presenten menor demanda hídrica y mayor resistencia a los cambios climáticos ya evidentes en la zona, que permitan un óptimo desarrollo económico y la conservación de los suelos destinados a este tipo de uso de la tierra. Una de las medidas de interés en el estado Falcón, es la implementación de sistemas agroforestales, debido a que estos constituyen una alternativa para estas zonas, de modo que, ayuden a proporcionar una mayor seguridad contra las variaciones climáticas; además de que forman la base de muchos sistemas de agricultura en regiones tropicales semiáridas, aportando beneficios socioeconómicos y culturales (Díaz, 2001; García, 1999).

Por su parte, Paolini *et al.* (2010) encontraron una mayor actividad biológica expresada por las actividades enzimáticas intracelulares y exocelulares en suelos bajo vegetación nativa, en contraste con los suelos bajo cultivo de sábila, *Aloe vera*, y melón de la microcuenca "El Socorro-Jadacaquiva", ésto por efecto del aporte directo de materia orgánica (MO) y la protección del horizonte superficial del suelo que brinda la vegetación contra los agentes erosivos.

Dada la influencia de la vegetación del semiárido falconiano y la amplia presencia del cují, *Prosopis juliflora*, además de su alta tolerancia hídrica y química, Matteucci *et al.* (1991), reconocen la cualidad de esta leguminosa como una fuente de MO, recalcando la riqueza nutritiva que poseen sus vainas, las cuales se producen satisfactoriamente en la época seca. Además, el cují, por ser una especie perteneciente a la familia de las leguminosas ofrece una mayor disponibilidad de nitrógeno (N) al establecer asociación con bacterias que fijan el N₂ atmosférico. Adicionalmente, esta especie genera condiciones

favorables para el desarrollo de otras especies vegetales bajo su copa (Herrera *et al.*, 2007).

Por esta razón, en este trabajo se realizó la evaluación de las propiedades bioquímicas de los suelos del sector "El Cebollal", donde existe la asociación entre el cují y el cultivo de sábila, con el objetivo de determinar el efecto que ejerce la utilización de esta leguminosa sobre las características bioquímicas de los suelos del semiárido falconiano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y características de los sitios de muestreo

El estudio se desarrolló en las zonas aledañas del centro poblado "Cujima" del sector "El Cebollal", municipio Miranda, estado Falcón, ubicado entre los meridianos 11°24'18" y 11°22'30" Norte, y 69°48'54" y 69°47'6" para el Oeste. La parcela se encuentra ubicada dentro de la serie de suelos denominada El Patillal, con suelos clasificados como Ustic Haplargids, con una textura franco-arenosa, con permeabilidad rápida, conductividad eléctrica muy baja, pH alcalino y alto porcentaje de saturación con bases (Rodríguez *et al.*, 2009).

Muestreo de suelos

Las muestras de suelo fueron colectadas en una parcela de 3 ha que presenta un sistema de cultivo de sábila a plena exposición solar, con una distancia de siembra de 0,5 m x 0,5 m; en esta parcela existen arboles de cují a una densidad baja (15 árboles/ha), lo cual condiciona la presencia de plantas de sábila bajo sombra del cují.

El muestreo de suelo fue realizado en junio de 2010. En total se seleccionaron nueve árboles de cují a lo largo de la parcela para determinar cada condición de muestreo: sábila bajo cují (1 y 3 m de la base del árbol; Tratamiento 1 y 2, respectivamente) y sábila a plena exposición solar (Tratamiento 3). Por tratamiento se tomó nueve muestras de suelo compuestas, para evaluar bajo la copa de cují y bajo sábila, a plena exposición solar. Las muestras fueron colectadas a una profundidad de 0-5 cm del suelo, debido a que allí es donde se concentra significativamente la actividad microbiana.

Una vez colectadas las muestras en bolsas plásticas resistentes, fueron trasladadas al Laboratorio de Ecología de Suelos del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Seguidamente, se separaron en dos

porciones, una fue secada al aire y pasada por un tamiz de 2 mm, para realizar los análisis físicos y químicos. La otra porción fue tamizada (2 mm) a la humedad de campo y refrigerada (4 °C), para realizar los análisis bioquímicos posteriormente.

Análisis físico-químicos del suelo

El pH se midió en agua en una relación 1:2,5 (FONAIAP, 1990). Las fracciones granulométricas se determinaron mediante el método del hidrómetro (Bouyoucos, 1962). El carbono total del suelo se determinó mediante oxidación húmeda con ácido sulfúrico concentrado y dicromato de potasio (Walkley y Black, 1934), la cantidad de carbono orgánico (CO) oxidado por el cromo (VI) se midió por colorimetría a una longitud de onda de 600 nm, mediante la concentración del cromo (III) formado durante la reacción (Sims y Haby, 1971). Se comparó el color con las lecturas de una curva de calibración preparada previamente con soluciones patrones de glucosa, sometidas al mismo tratamiento que las muestras. El nitrógeno total (Nt) se evaluó por medio del método de Kjeldhal (Bremner, 1960) y el fósforo disponible (Pd) se estimó por espectrofotometría, usando el método del complejo azul de molibdato (Murphy y Riley, 1962), previa extracción con bicarbonato de Sodio (Olsen *et al.*, 1954).

Análisis bioquímico del suelo

En este trabajo se determinaron las siguientes actividades enzimáticas: deshidrogenasa, hidrólisis del diacetato de fluoresceína (DAF), β -glucosidasa, fosfatasa alcalina, y ureasa, las cuales están relacionadas al ciclo del carbono, P y N. En estudios realizados en el semiárido falconiano (Paolini *et al.*, 2010), en condiciones edafoclimáticas similares a las de este estudio, se encontró que estas enzimas fueron las que mostraron una mejor respuesta como indicadores de calidad del suelo, bajo diferentes condiciones de manejo.

La actividad de la deshidrogenasa se midió por el método del INT (iodofenil-3-nitrofenil-5-feniltetrazolio), según la metodología planteada por Camiña *et al.* (1998); la hidrólisis del DAF, a través de la determinación de la fluoresceína producida (Schnürer y Rosswall, 1982); la fosfatasa alcalina por el método de Tabatabai y Bremner (1969), mediante la determinación del P-nitrofenol producido cuando la muestra de suelo es incubada con una solución de P-nitrofenil-fosfato; se determinó la β -Glucosidasa por el método propuesto por Eivazi y Tabatabai (1988); Tabatabai (1994) y la actividad ureásica (AU) del suelo a través del método de

Kandeler y Gerber (1988), basado en la determinación del amonio liberado, cuando una muestra de suelo es incubada con urea como sustrato. Los resultados de las actividades enzimáticas son expresados con base en el peso seco, para lo cual se estimó la humedad del suelo mediante al método gravimétrico.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó un diseño en bloques al azar, seleccionando nueve árboles de cují como unidad de bloque; en cada árbol se evaluó cada condición de muestreo o tratamiento. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software SPSS 17.0 Statistics. Las diferencias entre tratamientos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANDEVA) de un factor, utilizando la prueba de mínima diferencia significativa. Adicionalmente se aplicó la correlación de Pearson para observar el grado de asociación entre cada variable.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características físico-químicas de los suelos

En el Cuadro 1 se presentan los valores medios de pH, porcentaje de humedad (%H), carbono orgánico total (COt), Nt, Pd y clase textural en los suelos estudiados.

pH

Los suelos del área bajo la copa de cují (T1 y T2), presentaron valores de pH de 8,5 y 8,6 respectivamente (Cuadro 1), no mostrando diferencias significativas con los suelos fuera del dosel (T3; pH = 8,7). En general se trata de suelos con valores altos de pH pudiendo ser catalogados como suelos alcalinos, tal como ha sido reportado por Mogollón *et al.* (2001) y Rodríguez *et al.* (2009) en estudios realizados en la misma zona.

Carbono orgánico

Los suelos del área bajo la copa de cují (T1 y T2), presentaron niveles de CO de 2,53 y 1,72 g C kg⁻¹, respectivamente, siendo los valores de T1 mayores al de la zona constituida por el cultivo de sábila a plena exposición solar (T3), el cual fue de 1,50 g C kg⁻¹, encontrando un gradiente entre tratamientos (Cuadro 1). Esto es originado principalmente por el mayor aporte de hojarasca, el cual se acumula bajo la copa, aumentando el contenido de MO reflejado en el CO.

CUADRO 1. Características físico-químicas de los suelos (n=27).

Tratamiento	DBT	pH	%H	COt (g C kg ⁻¹)	Nt (g N kg ⁻¹)	Pd (mg P kg ⁻¹)	Clase Textural
T1	Cerca	8,5 a	27,7 a	2,53 a	0,60 a	10 a	Fa
T2	Medio	8,6 a	26,4 a	1,72 ab	0,43 ab	6 b	Fa
T3	Lejos	8,7 a	26,0 a	1,50 b	0,30 b	7 b	Fa

Las letras iguales representan similitud entre tratamientos según la prueba de mínima diferencia significativa.

Tratamiento: T1= bajo dosel a 1 m de la base del árbol; T2= bajo dosel a 3 m de la base del árbol; T3= a plena exposición.

DBT: distancia a la base del tronco; %H: porcentaje de humedad; COt: carbono orgánico total; Nt: nitrógeno total; Pd: fósforo disponible.

En la literatura se encuentran evidencias que corroboran lo encontrado en este trabajo, y que demuestran que los suelos bajo la copa de una especie leguminosa, poseen mayor contenido de CO cerca del tronco, siendo el caso contrario en las zonas desnudas o a plena exposición solar (Reyes-Reyes *et al.*, 2002; Montaña-Arias *et al.*, 2006; Perroni, 2007).

Nitrógeno total

Los suelos bajo la copa de cují (T1 y T2), presentaron valores del contenido de Nt de 0,60 y 0,43 g N kg⁻¹ de suelo, respectivamente, siendo similares entre sí. Por otra parte, los valores de T1 resultaron mayores a los de la zona constituida por el cultivo de sábila a plena exposición solar (T3), el cual fue de 0,30 g N kg⁻¹ de suelo, de manera que se asume que los contenidos de Nt varían al alejarse del tronco, siendo T1=T2, T2=T3 y T1≠T3 (Cuadro 1). Esta tendencia mostró similar comportamiento al de los niveles de CO del suelo. Es originada por el mayor aporte de MO bajo la copa del árbol, por lo que existe una correlación entre el Nt y el CO ($r = 0,52$; Cuadro 3); adicionalmente, al poseer esta zona un microclima menos estresante, se estimula la actividad microbiana y los procesos de mineralización de la MO posiblemente son llevados a cabo de una manera más efectiva, produciendo fuentes de N como es el caso del amonio.

Fósforo disponible

A 1 m del dosel (T1) los suelos presentaron niveles de contenido de Pd de 10,41 mg P kg⁻¹, siendo mayores a los de T2 (bajo dosel a 3 m de la base del árbol) y T3 (zona constituida por el cultivo de sábila a plena exposición solar), con valores de 6,40 y 6,93 mg P kg⁻¹ de suelo, respectivamente. No encontrándose diferencias significativas entre estos dos tratamientos ($P = 0,25$) siendo

T1≠T2=T3 (Cuadro 1). Esto podría estar relacionado al mayor aporte de MO debajo del dosel, la cual aporta el P orgánico al suelo, siendo transformado a inorgánico por la actividad microbiana.

Investigaciones realizadas en similar área geográfica al estudio (Rodríguez *et al.*, 2009), reportan valores de Pd de 15 mg kg⁻¹ en suelos bajo sábila con manejo orgánico, los cuales son mayores a los encontrados en suelos bajo bosque (2 mg kg⁻¹). Los resultados arrojados por dicho estudio, a pesar de no presentar unidades similares a las de este trabajo, son importantes ya que demuestran la relación entre la MO, la actividad microbiana y el P en el suelo, siendo la misma tendencia encontrada en esta investigación. Asimismo, Virginia y Jarrell (1983) evaluando las propiedades del suelo en presencia del *Proposis glandulosa* en un ecosistema del desierto sureño de Sonora, reportaron un valor de 9,6 mg P kg⁻¹ en suelos bajo la copa del árbol siendo mayor al encontrado en los límites de la copa (7,9 mg P kg⁻¹) y entre las copas de los árboles (1,5 mg P kg⁻¹); presentando la misma tendencia encontrada en este estudio.

Características bioquímicas de los suelos

Actividad de la deshidrogenasa

Los tratamientos T1 y T2 presentaron niveles de la actividad deshidrogenasa (AD) de 60,8 y 39,0 µg INTF g⁻¹ h⁻¹, respectivamente, los cuales resultaron similares estadísticamente. El valor de la AD en la zona constituida por el ensayo T3 fue de 25,7 µg INTF g⁻¹ h⁻¹, encontrándose diferencias significativas con T1 ($P=0,007$; Cuadro 2), observándose una tendencia idéntica a la del CO, debida principalmente a la influencia de la copa del árbol, lo que eleva el contenido de CO en comparación a los suelos a plena exposición solar y mejora las condiciones microclimáticas en esta zona.

Al tener el suelo mayor cantidad de MO, retiene mayor humedad (la cual también es protegida por la sombra) y nutrientes para que la actividad microbiológica sea elevada, generando valores más altos de la biomasa microbiana, por lo que existe correlación entre la AD y el CO ($r = 0,83$; Cuadro 3); de esta manera se justifican los valores más altos de la AD en T1. Paolini *et al.* (2010) evaluaron los parámetros bioquímicos en suelos de la microcuena “El Socorro-Jadacaquiva” del semiárido falconiano, reportando valores de la AD de $87,9 \mu\text{g INTF g}^{-1} \text{h}^{-1}$ en suelos bajo vegetación nativa o densa, siendo estos superiores a los datos obtenidos para los suelos bajo cultivo de sábila ($AD = 29,5 \mu\text{g INTF g}^{-1} \text{h}^{-1}$); presentando la misma tendencia a los valores encontrados en este estudio.

Hidrólisis del diacetato de fluoresceína

Los suelos bajo la copa de cují (T1 y T2), presentaron niveles de la hidrólisis del DAF de $54,5$ y $28,5 \mu\text{g Fluor g}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectivamente, siendo similares entre sí. Sin embargo, la DAF en T1 resultó ser mayor al T3, el cual fue de $15,4 \mu\text{g Fluor g}^{-1} \text{h}^{-1}$, encontrándose diferencias significativas entre estos dos tratamientos ($P = 0,006$), siendo $T1=T2$, $T1 \neq T3$ y $T2=T3$ (Cuadro 2).

Esto se relaciona principalmente con el mayor aporte de MO el cual aumenta la disponibilidad de nutrientes y genera las condiciones adecuadas para una mayor actividad microbiana, encontrándose una correlación significativa entre la hidrólisis del DAF y el CO ($r = 0,82$; Cuadro 3), por lo tanto a mayor biomasa microbiana activa en estos suelos, mayor será la fluoresceína producida,

razón por la cual se observa una correlación significativa entre la AD y la hidrólisis del DAF ($r = 0,89$; Cuadro 3).

Por su parte, Paolini *et al.* (2010) reportaron un valor superior para la hidrólisis del DAF en suelos bajo vegetación densa de la microcuena “El Socorro-Jadacaquiva”, siendo éste de $82,6 \mu\text{g Fluor g}^{-1} \text{h}^{-1}$, el cual fue mayor con respecto al obtenido para suelos bajo cultivo de sábila ($DAH = 27,8 \mu\text{g Fluor g}^{-1} \text{h}^{-1}$). La misma tendencia fue reportada por Chacón *et al.* (2009) quienes evaluaron la interacción de las propiedades químicas, físicas y bioquímicas del suelo y raíces de las plantas nativas y exóticas de las zonas áridas neotropicales, específicamente en el Parque Nacional “Cerro Saroche”; encontrando un valor superior en suelos bajo árboles de cují y plantas invasoras con respecto a los suelos en áreas descubiertas, los cuales presentaron valores inferiores de la hidrólisis del DAF.

Actividad de la fosfatasa alcalina

Los suelos del área bajo la copa de cují (T1 y T2), presentaron niveles de la actividad fosfatasa alcalina (AFA) de $285,1$ y $181,4 \mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectivamente, estos valores son mayores al de la zona constituida por el cultivo de sábila a plena exposición solar, el cual fue de $130,1 \mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{h}^{-1}$, encontrando diferencias significativas entre los tres tratamientos (Cuadro 2). Los valores superiores de AFA en los suelos bajo el dosel de cují se deben principalmente al mayor aporte de MO, cuando se trata de nutrimentos o actividad biológica del suelo, como se ha venido observando a lo largo de este estudio, encontrando una correlación significativa entre esta enzima y el CO ($r = 0,63$; Cuadro 3).

CUADRO 2. Características bioquímicas de los suelos (n=27).

Tratamiento	DBT	AD ($\mu\text{g INTF g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	DAF ($\mu\text{g Fluor g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	AFA ($\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	β -Gluc ($\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	AU ($\mu\text{g NH}_4 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$)
T1	Cerca	60,8 a	54,5 a	285,1 a	70,4 a	25,0 a
T2	Medio	39,0 ab	28,5 ab	181,4 b	29,0 b	16,6 b
T3	Lejos	25,7 b	15,4 b	130,1 c	16,5 c	9,9 b

Las letras iguales representan similitud entre tratamientos según la prueba de mínima diferencia significativa.

Tratamiento: T1= bajo dosel a 1 m de la base del árbol; T2= bajo dosel a 3 m de la base del árbol; T3= a plena exposición.

DBT: Distancia a la Base del tronco; AD: actividad deshidrogenasa; DAF: diacetato de fluoresceína; AFA: actividad fosfatasa alcalina; β -Gluc: β -Glucosidasa; AU: actividad ureásica.

CUADRO 3. Correlación entre las variables físico-químicas y bioquímicas (n = 27).

	AD ($\mu\text{g INTF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	DAF ($\mu\text{g Fluor g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	AFA ($\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	β -gluc ($\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	AU ($\mu\text{g NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	CO	Nt	Pd	%H	pH
AD	1,00									
DAF	0,89**	1,00								
AFA	0,74**	0,75**	1,00							
β -Gluc	0,84**	0,87**	0,82**	1,00						
AU	0,71**	0,53**	0,48*	0,54**	1,00					
CO	0,83**	0,82**	0,63**	0,69**	0,56**	1,00				
Nt	0,64**	0,54**	0,59**	0,56**	0,63**	0,52**	1,00			
Pd	0,71**	0,63**	0,52**	0,62**	0,55**	0,76**	0,53**	1,00		
%H	0,41*	0,51**	0,34 N.S.	0,40*	0,21 N.S.	0,64**	0,51**	0,52**	1,00	
pH	-0,40*	-0,44*	-0,21 N.S.	-0,34 N.S.	-0,18 N.S.	-0,39*	-0,25 N.S.	-0,18 N.S.	-0,45*	1,00

* $P < 0,01$; ** $P < 0,05$; N.S. = no significativas. AD: actividad deshidrogenasa; DAF: diacetato de fluoresceína; AFA: actividad fosfatasa alcalina; β -Gluc: β -Glucosidasa; AU: actividad ureásica; CO: carbono orgánico; Nt: nitrógeno total; Pd: fósforo disponible; %H: porcentaje de humedad.

La fosfatasa alcalina participa en la mineralización del P orgánico (forma predominante en los suelos) a P inorgánico (forma asimilable para las plantas), lo que justifica los resultados obtenidos en este estudio, ya que en los suelos a plena exposición solar el Pd es menor en comparación a los suelos bajo la copa de cují, esto aunado a la mayor cantidad de MO en los mismos. Chacón *et al.* (2009) reportan un valor de la AFA en suelos bajo vegetación nativa (cují) de la zona árida del Parque Nacional “Cerro Saroche”, el cual fue de aproximadamente $260,0 \mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, muy similares a los valores presentados en este estudio.

Adicionalmente, algunas investigaciones muestran que las especies leguminosas secretan mayor cantidad de enzimas fosfatasas, en contraste con otras especies. Esto es debido probablemente al alto requerimiento de P por parte de las leguminosas en el proceso de la fijación simbiótica del N (Yadav y Tarafdar, 2001), razón que podría explicar la correlación significativa existente entre la AFA y el Pd ($r = 0,52$; Cuadro 3).

Actividad de la β -Glucosidasa

Los suelos bajo la copa de cují (T1 y T2), presentaron niveles de la actividad β -Glucosidasa de $70,4$ y $29,0 \mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente, siendo superiores al de la zona constituida por el cultivo de sábila a plena exposición solar, el cual fue de $16,5 \mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, observando diferencias significativas entre los tres tratamientos ($T1 > T2 > T3$). La actividad de la enzima β -Glucosidasa está relacionada con la actividad microbiana del suelo debido a que ésta brinda la glucosa que sirve como fuente de energía para los microorganismos del mismo, de

manera que un alto valor correspondiente a esta enzima en suelos bajo la copa de cují es debido principalmente al aporte directo de CO en estos suelos, que propicia una mayor biomasa microbiana por efecto de la disponibilidad de nutrientes y la condición microclimática, por lo tanto, existe correlación significativa entre la actividad de la β -Glucosidasa y la AD ($r = 0,84$), la hidrólisis del DAF ($r = 0,87$) y el CO ($r = 0,69$; Cuadro 3).

Paolini *et al.* (2010) quienes evaluaron parámetros bioquímicos en los suelos de la microcuenca “El Socorro -Jadacaquiva” del semiárido falconiano; reportan un nivel de la actividad β -Glucosidasa de $132,2 \mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en suelos bajo vegetación densa, siendo este valor notablemente superior al reportado para suelos bajo cultivo de sábila ($43,2 \mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$), por último el menor valor se encontró en suelos bajo cultivo de melón (β -Gluc = $42,1 \mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) siendo similar a la tendencia descrita en este estudio, donde los suelos con mayor contenido de MO poseen la actividad β -Glucosidasa más elevada.

Actividad ureásica

Los suelos bajo la copa de cují colectados a 1 m de la base del árbol (T1) presentaron niveles de la AU de $25 \mu\text{g NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, los cuales resultaron mayores estadísticamente a T2 y T3, con valores de $16,6 \mu\text{g NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $9,8 \mu\text{g NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente, siendo estos dos tratamientos similares entre sí. En este sentido, se encontró la siguiente tendencia: $T1 > T2 = T3$; ($P = 0,009$). Los valores más altos de la AU en suelos bajo el dosel de cují, son debidos principalmente a un mayor contenido de CO en

estos suelos, lo que estimula la actividad microbiana del mismo para la producción de estas enzimas.

Estos resultados sugieren que hay una alta correspondencia de la AU con los valores de CO para los sitios evaluados, por lo que existe correlación significativa entre ambas variables ($r = 0,56$; Cuadro 3). Resultados similares fueron reportados por Mogollón y Martínez (2009); Mogollón y Tremont (2002); Marinari *et al.* (2000), tanto en ecosistemas naturales como en agroecosistemas. Cookson y Lepiece (1996) y Mogollón *et al.* (2010) indican que la actividad de la ureasa en regiones áridas está asociada con los niveles más altos de la MO.

En suelos con características similares Paolini *et al.* (2010) reportan valores de $63,9 \mu\text{g NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en suelos bajo vegetación nativa de la microcuenca “El Socorro-Jadacaquiva” del semiárido falconiano, siendo este valor superior al de los suelos bajo cultivo de sábila el cual fue de $30,7 \mu\text{g NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, valor cercano al presentado en este estudio correspondiente a los suelos bajo la copa de cují, los cuales también son destinados a la producción de sábila. Mogollón *et al.* (2010) reportan valores de la AU en bosque seco tropical en la misma área de estudio del presente trabajo, de $57,2 \mu\text{g NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, y de $25,2 \mu\text{g NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para un suelo bajo cultivo de sábila.

En este sentido se puede argumentar que el cují beneficia la actividad biológica del suelo por el continuo aporte de MO y las condiciones microclimáticas que genera, estimulando el desarrollo de biomasa microbiana y por ende de enzimas como la ureasa.

CONCLUSIONES

- El cují al encontrarse ampliamente distribuido en el semiárido falconiano, y al poseer características que le permiten sobrevivir en ecosistemas con condiciones generadoras de estrés, actúa como isla de fertilidad, contribuyendo a la salud y calidad del recurso suelo al generar un aporte de MO y nutrimentos.
- La asociación del cují con otros cultivos, como es el caso de la sábila, puede ser de gran relevancia para el mantenimiento y recuperación del semiárido falconiano.
- Se observó un gradiente con relación al contenido de nutrimentos y a la actividad microbiana, de mayores a menores valores, en la medida en que aumenta la distancia desde la base del árbol hasta la zona de plena exposición solar.

- Se observaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de CO, Pd y Nt entre los tratamientos evaluados.
- Las actividades enzimáticas pueden ser consideradas de gran valor diagnóstico dentro de las pruebas bioquímicas, puesto que debido a su alta sensibilidad, pudieron expresar los cambios en la calidad del suelo en los diferentes tratamientos evaluados.
- Se encontró una alta correlación entre las actividades enzimáticas evaluadas y los niveles de MO del suelo, demostrando la enorme importancia del CO en los ecosistemas semiáridos.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda” (UNEFM) por la formación académica; al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), por brindar los recursos tecnológicos y humanos para la realización de este trabajo especial de grado.

BIBLIOGRAFÍA

- Bouyoucos, G. J. 1962. Hydrometer method improved for marking particle size analyses of soil. *Agron. J.* 54:464-465.
- Bremner, J. M. 1960. Nitrogen total. **In:** Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., Loeppert, R.H., Soltan-pour, P.M., Tabatabai, M.A., Johnston, C.T. y Sommers, M.E. (eds.). *Methods of soil analysis, part 3. Chemical methods.* ASA-SSSA, Madison, WI, 1 085-1 121 pp.
- Camiña, F., C. Trasar-Cepeda, F. Gil-Sotres and C. Léiros. 1998. Measurement of dehydrogenase activity in acid soils rich in organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 30:1 005-1 011.
- Chacón, N., I. Herrera, S. Flores, J. A. González and J. M. Nassar. 2009. Chemical, physical, and biochemical soil properties and plant roots as affected by native and exotic plants in Neotropical arid zones. *Biol. Fertil. Soils* 45:321-328.
- Cookson, P. and G. L. Lepiece. 1996. Urease enzyme activity of soils of the Batinah region of Sultanate of Oman. *Journal of Arid Environments.* 32:225-238.

- Díaz, M. 2001. Ecología experimental y ecofisiología: Bases para el uso sostenible de los recursos naturales de las zonas áridas neo-tropicales. *Interciencia*. 26:472-478.
- Eivazi, F. and M.A. Tabatabai. 1988. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biol. Biochem.* 20:601-606.
- Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP). 1990. Manual de Métodos y Procedimientos de Referencia. Análisis de Suelo para Diagnóstico de Fertilidad. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Escuela de Agronomía. Ministerio de Agricultura y Cría. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. CENIAP. Maracay. (Serie D N° 26)
- García, I. 1999. Crecimiento y comportamiento ecofisiológico del *Agave cocui* y del *Sorghum bicolor* asociados a *Prosopis juliflora* en un sistema agroforestal simultáneo de la zona semiárida, Falcón. Trabajo Especial de Grado para Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Coro, Venezuela.
- Herrera, G., Y. Herrera, B. Reyes and L. Dendooven. 2007. Mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw) DC.), huisache (*Acacia farnesiana* (L.) Willd.) and catclaw (*Mimosa biuncifera* Benth.) and their effect on dynamics of carbon and nitrogen in soils of the semi-arid highlands of Durango Mexico. *Journal of Arid Environments*. 69:583-598.
- Kandeler, E. and H. Gerber. 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils*. 6:68-72.
- López, R., E. Villavicencio, M. Real, J. Ramírez y B. Murillo. 2003. Macronutrientes en suelos de desierto con potencial agrícola. *Terra Latinoamericana*. 21:333-340.
- Marinari, S., G. Masciandaro, B. Ceccanti and S. Grego. 2000. Influence of organic and mineral fertilizers on soil biological and physical properties. *Bio Resource Tech.* 72:9-17.
- Matteucci, S., A. Colma y Y. Acosta. 1991. Potencial productivo de los cujisales en el árido falconiano (Venezuela). *Interciencia*. 16:313-321.
- Mogollón, J. P., D. Torres y A. Martínez. 2010. Cambios en algunas propiedades biológicas del suelo según el uso de la tierra, en el sector El Cebollal, estado Falcón, Venezuela. *Bioagro*. 22:217-222.
- Mogollón, J. P. y A. Martínez. 2009. Variación de la actividad biológica del suelo en un transecto altitudinal de la Sierra de San Luis, estado Falcón. *Agronomía Trop.* 59(4):469-479.
- Mogollón, J. P. y O. Tremont. 2002. Efecto del cambio de uso de la tierra sobre la actividad ureásica en agroecosistemas cafetaleros del estado Falcón. *Croizatia*. 3:16-25.
- Mogollón, J. P., O. Tremont y N. Rodríguez. 2001. Efecto del uso de un vermicompost sobre las propiedades biológicas y químicas de suelos degradados por sales. *Venesuelos*. 9:48-56.
- Montaño-Arias, N., R. García-Sánchez, G. Ochoa-de la Rosa y A. Monroy-Ata. 2006. Relación entre la vegetación arbustiva, el mezquite y el suelo de un ecosistema semiárido en México. *Terra Latinoamericana*. 24:193-205.
- Murphy, J. and J. P. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27:31-36.
- Olsen, S. R., C. V. Cole, F. S. Watanabe and L. A. Dean. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U.S. department of Agriculture (USDA). Circular 939, 1-19 pp.
- Paolini, J., H. Aponte y P. Atacho. 2010. Propiedades bioquímicas de suelos del semiárido venezolano. Memorias del 16th Congress of the International Soil Conservation Organization (ISCO). Santiago de Chile, Chile.
- Perroni, Y. 2007. Islas de fertilidad en un ecosistema semiárido: nutrientes en el suelo y su relación con la diversidad vegetal. Tesis para obtener el grado de Doctorado en Ciencias en Ecología y Manejo de Recursos Naturales. Instituto de Ecología, C. A., Veracruz, México. 100 p.
- Reyes-Reyes, G., L. Baron-Ocampo, I. Cualí-Alvarez, J. T. Frías-Hernández, V. Olalde-Portugal, L. Varela-Fregoso and L. Dendooven. 2002. C and N dynamics in soil from the central highlands of Mexico as affected by mesquite (*Prosopis* spp.) and huizache (*Acacia tortuosa*): a laboratory investigation. *App. Soil Ecol.* 19:27-34.

- Rodríguez, N. 2002. Identificación y caracterización de indicadores de sostenibilidad de los tipos de uso de la tierra en las series El Patillal y San Isidro de la Llanura de Coro, estado Falcón. Tesis de Maestría. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. 101 p.
- Rodríguez, N., A. Florentino, D. Torres, H. Yendis y F. Zamora. 2009. Selección de indicadores de calidad de suelo en tres tipos de uso de la tierra en la planicie de Coro estado Falcón. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 26:340-361.
- Schnürer, J. and T. Rosswall. 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology* 43:1 256-1 261.
- Sims, J. R. and V. A. Haby. 1971. Simplified colorimetric determination of soil organic matter. *Soil Sci.* 112:137-141.
- Tabatabai, M. A. and J. M. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1:301-307.
- Tabatabai, M. A. 1994. Soil enzymes. **In:** Methods of soil analysis. Part. 2 Microbiological and biochemical properties. Mickelson S.H. y J.M. Bigham (Eds.) SSSA Book Series, No. 5, Madison, WI. 775-833 pp.
- Virginia, R. and W. Jarrel. 1983. Soil properties in a mesquite-dominated Sonoran Desert ecosystem. *Soil Sci Soc Am J.* 47:138-144.
- Walkley, A. and I. A. Black. 1934. An examination of the method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37:29-37.
- Yadav, R. S. and J. C. Tarafdar. 2001. Influence of organic and inorganic phosphorous supply on the maximum secretion of acid phosphatase by plants. *Biol. Fert. Soils.* 34:140-143.

EFFECTOS DE LA DENSIDAD DE SIEMBRA Y FERTILIZACIÓN NITROGENADA SOBRE EL RENDIMIENTO DE GRANOS DE ARROZ DEL CULTIVAR CENTAURO EN VENEZUELA¹

EFFECTS OF PLANTING DENSITY AND NITROGEN FERTILIZATION ON THE GRAIN YIELD OF RICE CULTIVAR CENTAURO IN VENEZUELA¹

Marco A. Acevedo Barona*, Margelys Salazar*, Willian A. Castrillo Fuentes*, Orlando J. Torres Angarita*, Edicta R. Reyes Ramone*, María Navas*, Rosa M. Álvarez Parra*, Orlando J. Moreno* y Edgar Torres Toro**

¹Financiado por convenio INIA-FUNDARROZ

*Investigadores(as). INIA Guárico, Barinas y Portuguesa. Venezuela. **Investigador. FLAR/CIAT Colombia. Correo electrónico: macevedo@inia.gov.ve, msalazar@inia.gov.ve

RESUMEN

Con el objeto de evaluar el efecto de densidades de siembra y fertilización nitrogenada sobre el rendimiento de granos de arroz, *Oryza sativa* L., del cultivar CENTAURO, se establecieron ensayos durante el ciclo de riego 2006-2007 en las tres principales zonas de producción del país. Se evaluaron tres niveles de densidad de siembra (Ds) y cuatro dosis de nitrógeno (DN). El diseño estadístico utilizado fue de bloques completos al azar con arreglo en franjas. Se evaluó rendimiento de granos kg ha⁻¹, ajustado al 12% de humedad y características secundarias. Se realizaron análisis de varianza, media y análisis multivariado de componentes principales (CP). Los análisis individuales por localidad y conjunto detectaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0,01$) para las DN en todas las localidades y diferencias significativas para la Ds solo en Barinas, la interacción DNxDs resultó altamente significativa en Barinas y Guárico, no así en Portuguesa, posiblemente debido a la alta variación experimental. Todos los resultados sugieren que el cultivar CENTAURO presenta una respuesta diferencial a la aplicación de N ($120 \leq DN \leq 200$) kg ha⁻¹ para el rendimiento de granos kg ha⁻¹. El análisis conjunto de la varianza para DN, Loc, DNxLoc y DNxDs resultó significativo al 1% y 5%, respectivamente, con predominancia de las variancias de localidades, seguida de DNxLoc, DN y DNxDs. El análisis de CP y la doble representación (biplot) resultaron de gran utilidad para estudiar la interacción de ambos factores (DNxDs).

Palabras Clave: *Oryza sativa* L.; manejo agronómico; nitrógeno; densidad de siembra; cultivar CENTAURO.

SUMMARY

In order to evaluate the effect of planting density and nitrogen fertilization on the grain yield, *Oryza sativa* L. of CENTAURO, trials were established during the 2006-2007 irrigation cycle in the three main production areas of the country. The design was a randomized complete block arranged in stripes, the (DN) is located in the main plots and (Ds) in the secondary plots with three replications. Grain yield was evaluated in kg ha⁻¹, adjusted to 12% moisture. Analyses of variance were conducted individual and group, Tukey mean analysis and multivariate analysis of principal components. The analysis individually and group by location allowed to detect significant differences ($P \leq 0.01$) for DN in all locations and significant differences Ds in Barinas, DNxDs interaction was highly significant in Barinas and Guárico, while in Portuguesa it was not detected possibly due to high experimental variation. All these results suggest that the cultivar CENTAURO presents a differential response to nitrogen application ($120 \leq DN \leq 200$) kg ha⁻¹ for grain yield. The group analysis the sources of variation in DN, Loc, DNxDs and DNxLoc were significant at 1% and 5%, respectively. The variation is predominance in the locations, followed by DNxLoc, DN and DNxDs. It was found that the principal components analysis and the use of dual representations (Biplot) are useful for studying the interaction of both factors (DNxDs).

Key Words: *Oryza sativa* L.; agricultural management; nitrogen; planting density; cultivar CENTAURO.

INTRODUCCIÓN

En Venezuela la producción de arroz, *Oryza sativa* L., está concentrada en las regiones de los llanos occidentales (estados Portuguesa, Barinas y Cojedes) y llanos centrales en el estado Guárico (Páez *et al.*, 2004), con cierto potencial de expansión hacia el estado Zulia, donde el cultivo ha venido desarrollándose en los últimos años.

El rendimiento promedio obtenido en los ciclos más recientes en el país se ubica alrededor de los 5 500 kg ha⁻¹, el cual es considerado alto si se compara con los valores promedios de otros países de Latinoamérica como Cuba, Panamá y Bolivia. Sin embargo, estos valores están por debajo del potencial de rendimiento en granos de los nuevos cultivares. Existen varios factores que, actuando juntos o independientes, pudieran interferir para alcanzar este potencial, entre ellos: la cantidad de semilla utilizada, la fertilización con nitrógeno (N), la preparación de suelos, el control de malezas, las plagas y las pérdidas durante la cosecha.

En este sentido, Pulver y Jennings (1997), consideran que para dar un manejo adecuado del producto de la investigación deben asociarse ciertos aspectos relacionados, por ejemplo: para fertilización, el requerimiento del cultivo con niveles de fertilidad en el suelo y control de malezas con preparación del terreno; mientras que para la densidad de siembra (Ds) los estudios deben considerar las necesidades óptimas en relación con la preparación de suelos.

En arroz, la productividad de granos está en función del potencial genético del cultivar y de las condiciones ambientales (manejo). La fertilización se considera una práctica fundamental para obtener mayores rendimientos de granos. Los requerimientos del cultivo varían según las condiciones y características del sistema de producción. La cantidad de N requerida por la planta varía de acuerdo a la fase de desarrollo y de las condiciones ambientales. El período de mayor absorción en la planta se ubica en las siguientes fases: (a) máximo macollamiento afectando el número de tallos por área y número de panículas; (b) fase reproductiva, inicio de floración afectando número de granos por panícula (Scivittaro y Machado, 2004).

En este orden de ideas, se considera al N la variable ambiental más relevante en la determinación del rendimiento en arroz. Siendo responsable de procesos fisiológicos fundamentales como la morfogénesis, crecimiento foliar, fotosíntesis y senescencia. Además, forma parte de todas las proteínas y de muchos componentes no proteicos (De Datta

et al., 1981). Por otra parte, Fageria *et al.* (2003) señalan que después del potasio, el N es el nutrimento que más acumula la planta de arroz, indicado como componente de la clorofila y determinante del crecimiento foliar, lo cual induce una mayor eficiencia de intercepción de la radiación solar y de la tasa fotosintética, con el consecuente incremento en la producción de granos.

Los mismos autores señalan que el N reviste mayor importancia desde el punto de vista del aprovechamiento y la eficiencia de utilización por la planta, por cuanto su aplicación en suelos inundados está sujeta a diversos procesos de pérdida. En este sentido, existen estudios que demuestran que la eficiencia con que la planta utiliza el fertilizante nitrogenado está entre 20 y 40% del N aplicado (De Datta y Broadbent, 1988).

Resultados obtenidos por Páez *et al.* (2004), indican que el modo en que los productores de arroz aplican los fertilizantes nitrogenados contribuye con la baja eficiencia, debido a que la misma se hace sobre lámina de agua o sobre barro, provocando pérdidas por volatilización del N amoniacal, nitrificación, y posterior desnitrificación, inmovilización biológica, fijación por minerales arcillosos, lixiviación y lavado, cuyos valores de pérdida oscilan entre el 60 y 80%. De todos los procesos indicados, la desnitrificación es considerado el principal mecanismo de pérdida de N bajo estas condiciones; según la reacción $2\text{NO}_3^- + 12\text{H}^+ + 10\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$, entre tanto que los microorganismos anaeróbicos utilizan la forma oxidada del N (NO_3^-) como receptor de electrones durante la descomposición de los residuos orgánicos en ausencia de oxígeno y lo reducen a N_2 ó N_2O , que es liberado en forma de gas (Fageria *et al.*, 2003). Asimismo, las aplicaciones de urea sobre lámina de agua incrementan significativamente la contaminación atmosférica por emisiones de N_2 (David *et al.*, 1994).

Por su parte, Páez (1991) mostró que la aplicación de fertilizantes al cultivo de arroz permite respuestas positivas y, se estima que en el caso particular del N puede lograrse un incremento en la producción de arroz Paddy de 20 a 40 kg por cada kilogramo que se aplique del elemento. Sin embargo, estudios realizados demuestran que existen marcadas diferencias varietales respecto a la respuesta óptima del rendimiento en granos, al ser sometidas a diferentes cantidades de N (Rico y De Datta, 1982; Rodríguez *et al.*, 2002).

De igual manera, Silva *et al.* (2007) evaluaron dos cultivares de arroz (IRGA 410 e IRGA 417) sobre diferentes dosis de nitrógeno (DN) en condiciones de riego, encontrando que la IRGA 417 respondió favorablemente

a la aplicación de 120 kg ha^{-1} ; mientras, ocurre lo contrario con IRGA 410. Además, no hubo correlación entre el contenido de N en la fase vegetativa y la productividad obtenida al final de ciclo. Estas variaciones propias del cultivar se pueden atribuir generalmente a tasas diferenciales de asimilación de N y velocidad en la síntesis de proteínas (Kumura, 1956).

La semilla es otro insumo estratégico, la cantidad a ser utilizada en la siembra debe establecerse adecuadamente, de acuerdo al cultivar, a la época de siembra y al tipo de suelo (Infeld y Zonta, 1987; Pedroso, 1987). Trabajos llevados a cabo en Venezuela con diferentes cultivares de arroz, revelan que cantidades de semilla en el orden de 120 a 130 kg ha^{-1} , son suficientes para el establecimiento de una aceptable población de plantas en campo; así mismo, el uso de Ds superiores a la señalada trae consigo problemas relacionados con la competencia dentro del cultivo, determinando al final del ciclo plantas con menor desarrollo, escaso macollamiento y panículas más cortas que las de una planta normal (Páez, 1991).

Por otro lado, Martínez (1998) agrega que los productores de Venezuela usan en promedio 150 a 160 kg ha^{-1} de semilla, alegando que emplean altas Ds para contrarrestar los posibles problemas por aves, deficiente nivelación y mala calidad de la semilla. Pedroso (1987) evidenció que altas densidades de semilla no siempre resultan en alta población inicial de plantas. Igualmente, utilizó tres Ds (100 , 150 y 200 kg ha^{-1}) y obtuvo una población inicial que varió entre 240 a 340 plantas por m^2 .

Counce (1987) obtuvo respuestas diferenciales de cultivares de arroz de riego con respecto al rendimiento de granos con el aumento de la Ds, las cuales atribuyó al año, localidad y cultivar utilizado. Rieffel Neto *et al.* (2000) evaluaron tres experimentos sembrados en diferentes épocas (ciclos), utilizando distintas densidades de plantas en sistemas de arroz con riego, encontrando que para los genotipos estudiados es posible recomendar densidades bajas de siembra entre 30 y 90 kg ha^{-1} , siempre que hayan condiciones de cultivo, con adecuado control de maleza, fertilización básica y nitrogenada, correcto manejo del riego y semilla de alta calidad.

Cuevas *et al.* (1995) señalan que en latinoamérica, la liberación de nuevos cultivares, con el tipo moderno de planta en el que se modifican características morfo-fisiológicas, resultó en un aumento del índice de cosecha de $0,3$ a $0,5$ y de la producción de arroz en 20% . Este modelo de planta posee algunas características bioquímicas, fisiológicas y morfológicas que, interactuando

de manera conjunta, pueden incrementar hasta 25% el potencial de rendimiento.

En virtud de los pocos trabajos publicados sobre densidad, fertilización y su interacción en arroz, además de la inconsistencia de los resultados encontrados y tomando en cuenta el desarrollo del nuevo cultivar de arroz CENTAURO, se planteó como objetivo principal del presente estudio, evaluar el efecto de tres niveles de la Ds y cuatro DN sobre el rendimiento de granos Paddy en kg ha^{-1} a través del análisis de la varianza convencional y multivariado (componentes principales).

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en la época de riego (ciclo norte-verano 2006-07) en los Campos Experimentales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) ubicados en Barinas, Guárico y Portuguesa, principales regiones productoras de arroz del país.

Los campos experimentales corresponden a series de suelos apropiadas para la producción comercial de arroz que en la actualidad están destinadas a la siembra e investigación de este rubro. Con base en los resultados del análisis de suelo, se establecieron los niveles de fertilización química en $80 \text{ kg de P}_2\text{O}_5$ y $80 \text{ kg de K}_2\text{O}$ antes de la siembra, incorporándola en el suelo seco.

El diseño experimental utilizado fue el de bloques completos al azar con arreglo en franjas; en la franja principal se ubicaron las DN, probándose las siguientes: DN₁ 80 , DN₂ 120 , DN₃ 160 y DN₄ 200 kg ha^{-1} ; se aplicaron dos reabonos con urea en dosis de 50 kg ha^{-1} , el primero a los $25-30$ días después de la germinación (DDG) y el segundo a los $45-50$ DDG. Las franjas secundarias fueron aleatorizadas y se ubicaron las Ds₁ 80 , Ds₂ 140 y Ds₃ 200 kg ha^{-1} , en tres repeticiones.

La preparación del suelo se realizó con labranza convencional. Para la siembra se utilizó semilla pre-germinada del cultivar CENTAURO, diseminada al voleo, en las fechas comprendidas entre el 15 de noviembre al 15 de diciembre, en el ciclo de riego. Se evaluó el rendimiento en kg ha^{-1} ajustados al 12% de humedad, así como otros caracteres secundarios de interés como altura de planta (AP) en centímetros; número de tallos (NT) por metro cuadrado; número de granos (NG) por panícula y número de granos llenos (NGLL) por panícula para ser estudiados en el análisis multivariado de componentes principales de Hotelling (1933).

Los análisis estadísticos de varianza se realizaron al 1% y 5%, mientras que la comparación múltiple de media de Tukey fue al 5%. Se verificó el cumplimiento de los supuestos del análisis de varianza; la homogeneidad de las varianzas a través de la prueba de Bartlett. El paquete estadístico utilizado fue procedimiento GLM del SAS (SAS, 2003) e Infostat/profesional, versión 1.1 (2002). Para el análisis de las medias de la interacción DsxDN, se calculó un valor crítico (Q_{DsxDN}) ponderado de la siguiente manera:

$$Q_{(DsxDN)} = \frac{(gIDs * QDs + gIDN * QDN)}{(gIDs + gIDN)}, \text{ donde}$$

Donde: gl se refiere a los grados de libertad del análisis de varianza de los factores principales y Q al valor crítico o error estándar del análisis de media.

Los análisis de varianza fueron complementados con el análisis de componentes principales (ACP), basados en el análisis de Hotelling (1933). El ACP es una técnica estadística utilizada para reducir la dimensionalidad de un conjunto inicial de datos. Intuitivamente, la técnica permite hallar las causas de la variabilidad del conjunto original de datos y ordenarlas por su importancia. Los componentes principales (CP) serán una combinación lineal de las variables originales, y además serán independientes entre sí. Para construir esta combinación lineal debe elaborarse primero la matriz de covarianza o matriz de coeficientes de correlación.

Según Bernardo (2002), un ACP tiene sentido si existen altas correlaciones entre las variables, ya que esto es indicativo de que existe información redundante y, por tanto, pocos factores explicarán gran parte de la variabilidad total. La elección de los CP se realiza de tal forma que el primero recoja la mayor proporción posible de la variabilidad original; el segundo factor debe contener la máxima variabilidad posible no recogida por el primero, y así sucesivamente. Del total de CP se elegirán aquellos que posean un porcentaje de variabilidad con valores superiores o iguales a 75%, dependiendo del origen de las variables estudiadas. No hay una regla definida sobre el número que se debe utilizar, por lo que se debe decidir en función del número de variables iniciales (hay que recordar que se trata de reducirlas en la medida de lo posible) y de la proporción de varianza explicada acumulada.

El ajuste del modelo fue implementado mediante análisis computacional Infostat (2007), versión 1.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presenta el análisis de varianza por localidades. Se puede observar que el factor principal DN resultó altamente significativo ($P \leq 0,01$) en las tres localidades, indicando que el rendimiento en grano Paddy en el cultivar CENTAURO responde de manera diferencial a las DN aplicadas, es decir, se detectó diferencias estadísticas significativas en al menos un contraste entre las medias de los tratamientos evaluados.

CUADRO 1. Análisis de varianza por localidad para rendimiento en grano Paddy.

F de V	G de L	CM		
		Barinas	Guárico	Portuguesa
Bloques	2	250 877	200 276	9 289 750
Dosis Nitrógeno (DN)	3	3 276 426**	1 244 000**	3 710 990**
Error(a)	6	366 766	452 233	503 928
Densidad de siembra (Ds)	2	1 598 297*	25 627 N.S.	1 059 506 N.S.
Error(b)	4	168 064	345 011	437 479
DN x Ds	6	566 710*	611 39*	271 670 N.S.
Error	12	152 371	202 880	649 476
Total	35			
Media		6 100,9	8 059,1	5 734,7
CV%		6,4	10,3	25,6

*= significativa; **= altamente significativa; N.S.= no significativa.

CM: contraste de medias; F de V: factores de variación; G de L: grados de libertad.

La fuente de variación Ds resultó significativa ($P \leq 0,05$) en la localidad de Barinas, lo cual permite indicar que el rendimiento en grano del cultivar CENTAURO presenta un comportamiento diferencial cuando se utilizan diferentes cantidades de semilla, caso contrario ocurrió en las localidades de Guárico y Portuguesa, donde esta fuente de variación resultó no significativa.

Cuando se estudia la interacción de ambos factores (DNxDs) el análisis detecta diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en las localidades de Barinas y Guárico, sugiriendo que la interacción de ambos factores afecta el rendimiento de granos en el cultivar, lo contrario ocurre en Portuguesa.

En forma general la mejor media por localidad se obtuvo en Guárico, seguida por Barinas y Portuguesa con 8 059, 6 100 y 5 735 kg ha⁻¹, respectivamente. Con respecto a la precisión de los ensayos esta fue mayor en la localidad de Barinas, seguido de Guárico y Portuguesa, con CV% de 6, 10 y 26, respectivamente. Estos valores se consideran bajos, excepto para Portuguesa, por ser la variable estudiada (rendimiento en granos) un carácter cuantitativo, altamente afectada por el ambiente. En la literatura otros autores han reportado para rendimiento en granos valores que oscilan entre 5,8 y 16% (Rico *et al.*, 1992; Gindri *et al.*, 1996 y Rodríguez *et al.*, 2002).

En el Cuadro 2 se presentan los contrastes de medias por localidad de las DN para rendimiento en grano paddy. Es posible observar que el cultivar CENTAURO responde positivamente a la aplicación de fertilizante nitrogenado en cantidades superiores a los 120 kg ha⁻¹. En este sentido, Guárico obtuvo los mejores rendimientos con 200 kg ha⁻¹, en Barinas con 160 kg ha⁻¹ y en Portuguesa con 120 kg ha⁻¹. Esta respuesta diferencial puede estar asociada a varios factores, tales como: (a) tipo de planta, específicamente capacidad de macollamiento y potencial productivo; el macollamiento en arroz esta asociado a la plasticidad de respuesta a la Ds, ya que interfiere en el rendimiento de granos y (b) condiciones climáticas: específicamente radiación solar y temperatura, ambos determinantes de la expresión del potencial productivo y consecuentemente de su respuesta a la aplicación de N. Por otro lado, los tipos de suelos donde se evaluaron los ensayos presentan características físico-químicas similares y de textura franca, con tendencia en Guárico al mayor contenido de arcilla.

Así mismo, Rico *et al.* (1992) concluyeron que los mejores rendimientos de granos en arroz se lograron en la medida que se incrementó la DN, hasta 160 kg ha⁻¹. Sin embargo,

Rodríguez *et al.* (2002) encontraron en ambos cultivares evaluados una relación directa entre rendimiento y DN aunque CIMARRÓN presentó menor potencial de rendimiento en comparación con FONAIAP 1, lo que permite concluir que el desempeño final está condicionado por el genotipo.

CUADRO 2. Análisis de media para rendimiento en grano Paddy para el factor principal dosis de nitrógeno.

Barinas		Guárico		Portuguesa	
kg ha ⁻¹	\bar{X}	kg ha ⁻¹	\bar{X}	kg ha ⁻¹	\bar{X}
160	6 844,0a	200	9 331,3a	120	7 198,8a
80	6 219,3b	120	8 698,9a	80	5 395,0b
120	5 948,4bc	160	7 440,3b	200	5 251,0b
200	5 391,9c	80	6 765,8c	160	5 093,5b

Medias seguidas por letras distintas son significativamente diferentes, según la prueba de rangos múltiples de Tukey $\alpha=0,05$.

En este sentido, CENTAURO se caracteriza por ser un cultivar del nuevo tipo de planta con alto potencial de rendimiento, donde predominan panículas largas, con alta cantidad de granos (superior a 200) y macollamiento con tallos fuertes resistentes al acame. En virtud de lo anterior, para satisfacer sus necesidades fisiológicas, este cultivar debe extraer altas cantidades de nutrimentos del suelo, especialmente N, elemento esencial en la morfogénesis, crecimiento foliar, fotosíntesis y senescencia.

Rodríguez *et al.* (2002) señalan que los cultivares venezolanos son de alto potencial de rendimiento con buena respuesta a la fertilización nitrogenada, lo cual implica que es fundamental la determinación de la dosis adecuada por cuanto un exceso puede afectar al cultivo negativamente.

El Cuadro 3 demuestra los contrastes de medias por localidad de la Ds para la variable rendimiento en granos, observándose que en todas el mayor rendimiento se obtuvo con 80 kg ha⁻¹ de semilla, siendo significativa en Barinas, mientras que en Guárico y Portuguesa no significativa. También, es posible observar que en Barinas, los menores rendimientos se obtuvieron con la mayor Ds utilizada, respuesta asociada probablemente al estrés debido por las enfermedades y la competencia entre plantas por la disponibilidad del N. Ambos interfieren negativamente en los componentes de rendimiento y en conse cuencia,

en el rendimiento de granos. Estos resultados están en concordancia con los presentados por Counce (1987) quien obtiene respuestas diferentes con el aumento de la Ds y lo atribuye a factores como: año, localidad y genotipo evaluado.

CUADRO 3. Análisis de media para rendimiento en grano Paddy para factor principal densidad de semilla.

Barinas		Guárico		Portuguesa	
kg ha ⁻¹	\bar{X}	kg ha ⁻¹	\bar{X}	kg ha ⁻¹	\bar{X}
80	6 489,8 a	80	8 103,8 a	140	6 031,9 a
140	6 047,0 ab	140	8 061,8 a	200	5 734,6 a
200	5 765,9 b	200	8 011,5 a	80	5 437,6 a

Medias seguidas por letras distintas son significativamente diferentes, según la prueba de rangos múltiples de Tukey $\alpha=0,05$.

Páez y Barrios (1995), muestran que en el cultivar ARAURE 4, la Ds entre 140 y 180 kg ha⁻¹, manejado con diferentes láminas de agua de riego, no inciden en el establecimiento final de la población de plantas en el cultivo. Resultados similares fueron obtenidos por Rodríguez *et al.* (2002) utilizando los cultivares CIMARRÓN y FONAIAP 1.

El cultivar CENTAURO responde satisfactoriamente al rendimiento de granos cuando se utilizan bajas Ds, esto podría atribuirse a la alta capacidad de macollamiento, así como al mayor número de tallos fértiles y mayor longitud de las panículas, y consecuentemente mayor NG.

Como se aprecia, la discusión estuvo centrada en los valores medios de ensayos individuales por localidad, los resultados obtenidos no demuestran tendencias claras para la DN, caso contrario ocurre con el factor Ds, donde la tendencia sería a utilizar la menor cantidad de semilla (80 kg ha⁻¹), ya que existe buena expresión fenotípica, posiblemente debido a compensación por la morfología y fisiología del nuevo cultivar.

Los resultados hasta ahora discutidos están influenciados por la interacción genotipo x ambiente (GxA), fenómeno de gran importancia para el fitomejorador. Ramalho *et al.*, (2000), explicaron que el efecto ambiental siempre se presenta como un factor de incertidumbre en la estimación de los parámetros genéticos y en la toma de decisiones sobre el comportamiento del mejor cultivar. Una

forma de disminuir su efecto, determinar su magnitud, así como medir el impacto relacionado a la recomendación de los cultivares y manejo, es a través de la utilización de diseños estadísticos apropiados, repetidos en diferentes ambientes. En la literatura revisada existen escasos trabajos en arroz sobre DN y Ds realizados en entornos heterogéneos y analizados de manera conjunta. Los pocos reportados realizan análisis individual debido a la complejidad para explicar las interacciones de tercer grado.

En el Cuadro 4, se presentan los cuadrados medios del análisis conjunto de las distintas fuentes de variación y su significancia para rendimiento en grano Paddy (kg ha⁻¹). No fue incluida Portuguesa por no poder superar la prueba de homogeneidad de varianza del error, posiblemente debido a la alta variación experimental.

CUADRO 4. Análisis de varianza combinado para rendimiento de granos Paddy.

F de V	G de L	CM
Dosis de nitrógeno (DN)	3	5 474 489**
Densidad de siembra (Ds)	2	1 011 066N.S.
Localidades (Loc)	1	9 020 753**
DNxDs	6	1 014 243*
DNxLoc	3	12 600 212**
DsxLoc	2	612 857N.S.
DNxDsxLoc	6	163 858N.S.
Error	48	450 344
Total	71	

*= significativa; **= altamente significativa
N.S.= no significativa

Se puede observar que las fuentes de variación DN, Loc, DNxLoc y DNxDs resultaron significativas al 1% y 5%, respectivamente; con predominancia de las varianzas de localidades, seguida de DNxLoc, DN y DNxDs. Estos resultados permitieron corroborar los obtenidos en los análisis individuales de DN y DNxDs, sugiriendo que la cantidad de fertilizante nitrogenado aplicado y las Ds utilizadas afectan el rendimiento de granos, e interactúan entre ellos. Mientras, la DN está altamente afectada por la localidad, no así el factor Ds.

En la Figura 1 se presentan las medias del análisis conjunto del rendimiento de granos con diferentes DN utilizadas. Se observa que el cultivar CENTAURO responde favorablemente a las DN crecientes de 80, 120,

160 y 200 kg ha⁻¹, aún cuando en la figura, el cultivar no alcanza el umbral máximo esperado de respuesta fisiológica, la tasa de desempeño entre las DN mayores es de 38 kg ha⁻¹, indicando la proximidad del punto máximo. No obstante, sería pertinente realizar el análisis económico para evaluar la factibilidad de aplicación de dichas DN. El análisis de las medias de Tukey formó dos grupos, en el “a” se ubicaron las medias del rendimiento de la DN intermedia-alta y en el “b” las DN más baja.

Es válido mencionar que aun cuando en este primer grupo no se detectó diferencias significativas entre las medias, se obtuvo diferencias en magnitud en el orden de 220 kg ha⁻¹. Estos resultados y los criterios de sostenibilidad del sistema productivo de arroz permitirían recomendar de manera general, para el cultivar CENTAURO, DN iguales a 120 kg ha⁻¹ y no superior a 160 kg ha⁻¹, con aplicación fraccionada entre los 25 y 50 DDG.

En este mismo orden de ideas, el análisis de la fuente de variación DNxLoc resultó altamente significativa con la segunda mayor varianza después de localidades; indicando que existe una interacción importante entre ambos factores. En tal sentido, no sería adecuado recomendar un único manejo para el referido cultivar y sí uno por localidad. Así, para el caso particular de Guárico, se recomienda dosis mínima de 120 y máxima de 200 kg ha⁻¹; para Barinas dosis entre 120 y 160 kg ha⁻¹ y para Portuguesa aún cuando no es fácil dar una recomendación de manejo, ya que el ensayo no permite ser conclusivo en virtud de la alta variación experimental, se pudo comprobar que la dosis de 120 kg ha⁻¹ produce respuesta aceptable en rendimiento de granos, coincidiendo con las dosis mínimas sugeridas en las otras localidades.

Con el objetivo de hacer una discusión integral y más completa que permita explicar la interacción de ambos factores conjuntamente con diversas variables secundarias que determinen el desempeño del nuevo cultivar, se realizó el análisis multivariado de CP de Hotelling (1933), asumiendo como tratamientos las 12 combinaciones de los niveles de los dos factores con las variables: rendimiento de granos, NT, AP, NG y NGLL.

El análisis multivariado de CP, arrojó los siguientes resultados: (1) Los CP₁ y CP₂ explicaron el 73%, 62%, 65% y 11%, 18%, 14% de la variabilidad, respectivamente, para un 84%, 80%, 79% de la variabilidad total que es expresada para las localidades Guárico, Barinas y análisis conjunto, respectivamente. Estos valores de representatividad del análisis de CP permiten una explicación más elocuente de la interacción; (2) la doble representación gráfica (Biplot) de los CP mostradas en las Figuras 2, 3 y 4, proporciona un análisis integral de la interacción de ambos factores y compara el desempeño de todas las variables estudiadas (Rend, NT, AP, NG y NGLL), poniendo en evidencia de forma más clara el análisis de los resultados y facilitando la interpretación para la toma de decisiones.

En Guárico (Figura 2) se pudo demostrar que el cultivar CENTAURO responde favorablemente a la aplicación de DN evidenciando que el mejor desempeño se logra con DN de 200 y 160 kg ha⁻¹, que corresponde a las DN₄ y DN₃, lo contrario se obtuvo con DN₁ baja (80 kg ha⁻¹), similar explicación es dada para las otras variables, mostrando que DN alta también acarrea un excesivo crecimiento (AP) promoviendo un mayor desarrollo vegetativo y posiblemente problemas de acame, aun cuando el análisis no fue significativo.

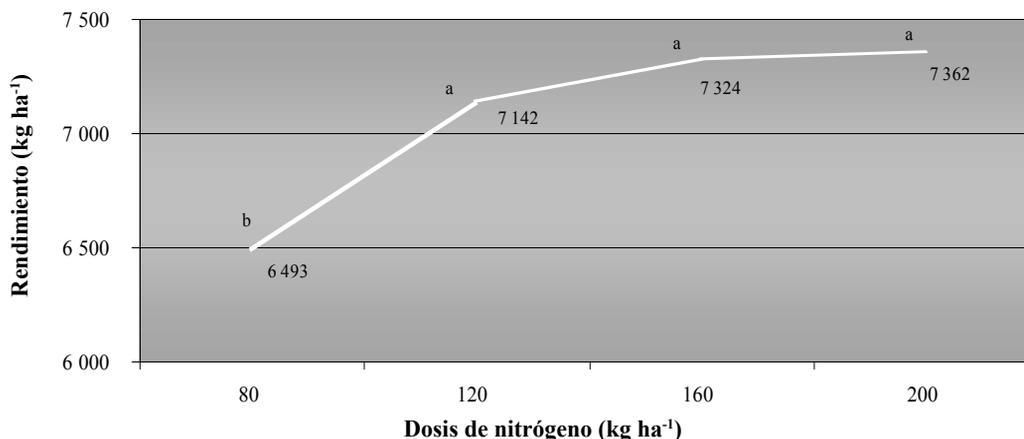


FIGURA 1. Comparación del rendimiento en granos del cultivar CENTAURO con diferentes dosis de nitrógeno, utilizando medias de análisis combinado.

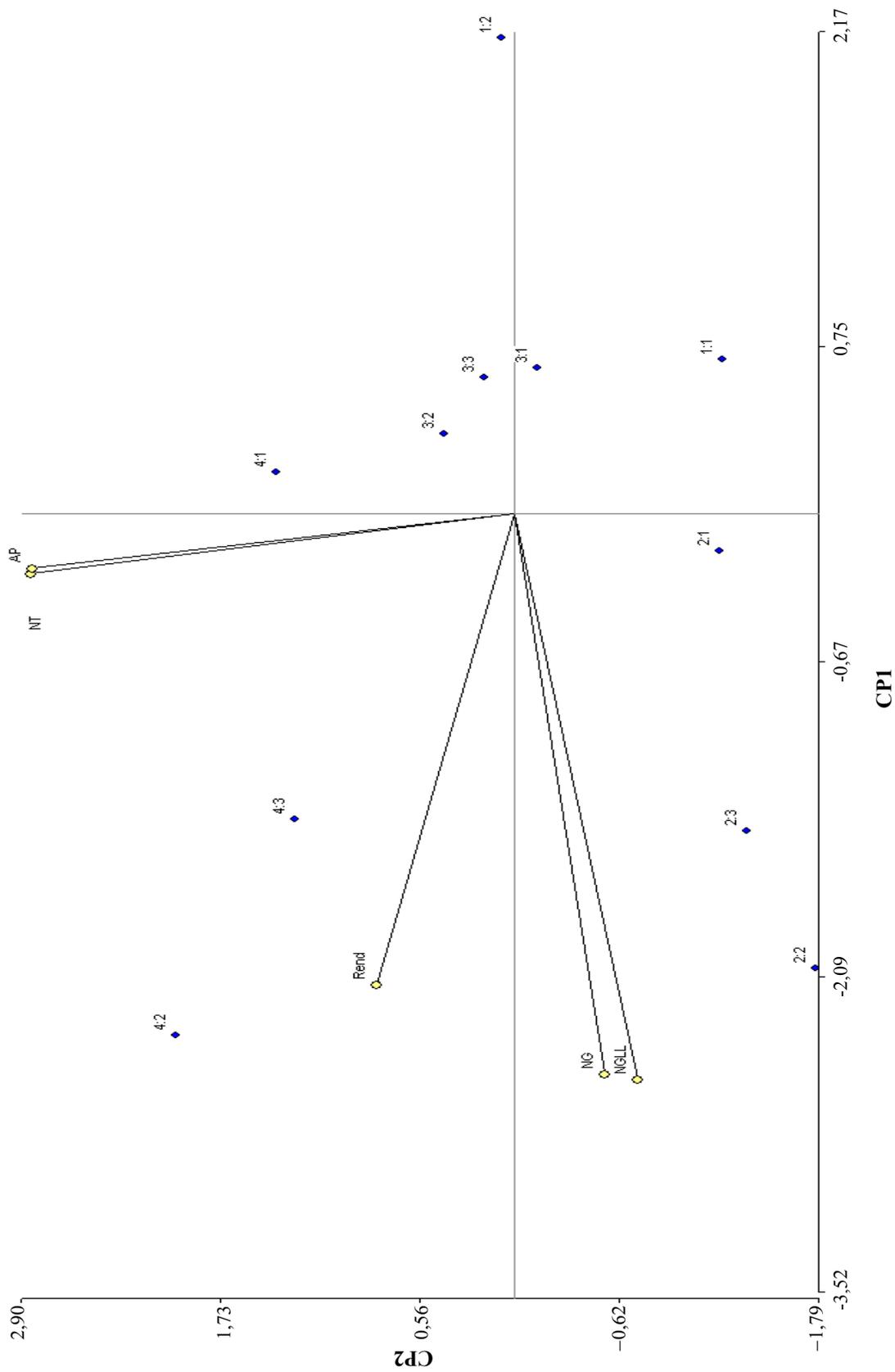


FIGURA 2. Doble representación Biplot del análisis agronómico para la interacción DNxDs utilizando el cultivar CENTAURO, localidad Guárico.

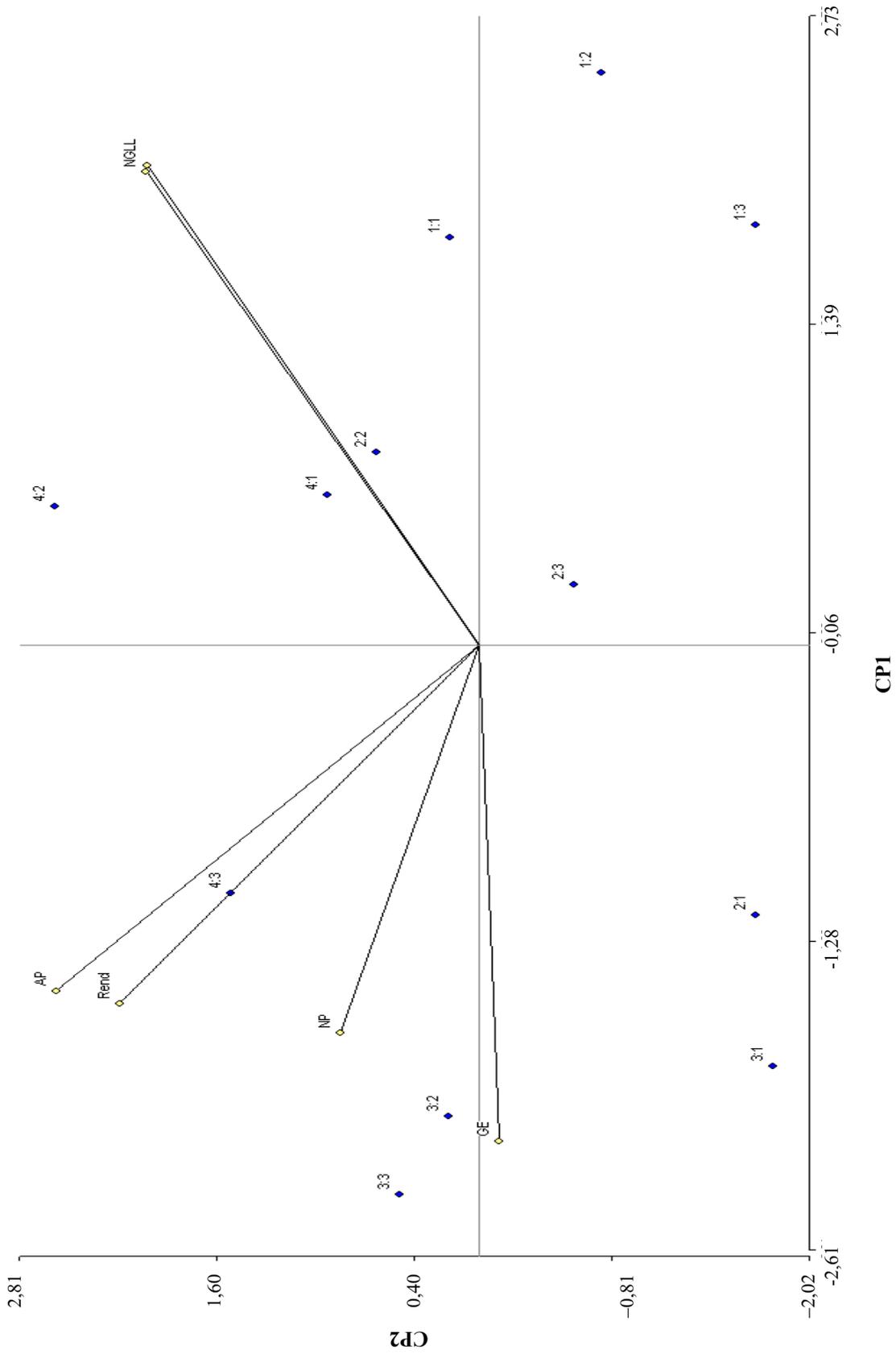


FIGURA 3. Doble representación Biplot del análisis agronómico para la interacción DNxDs, utilizando el cultivar CENTAURO, localidad Barinas.

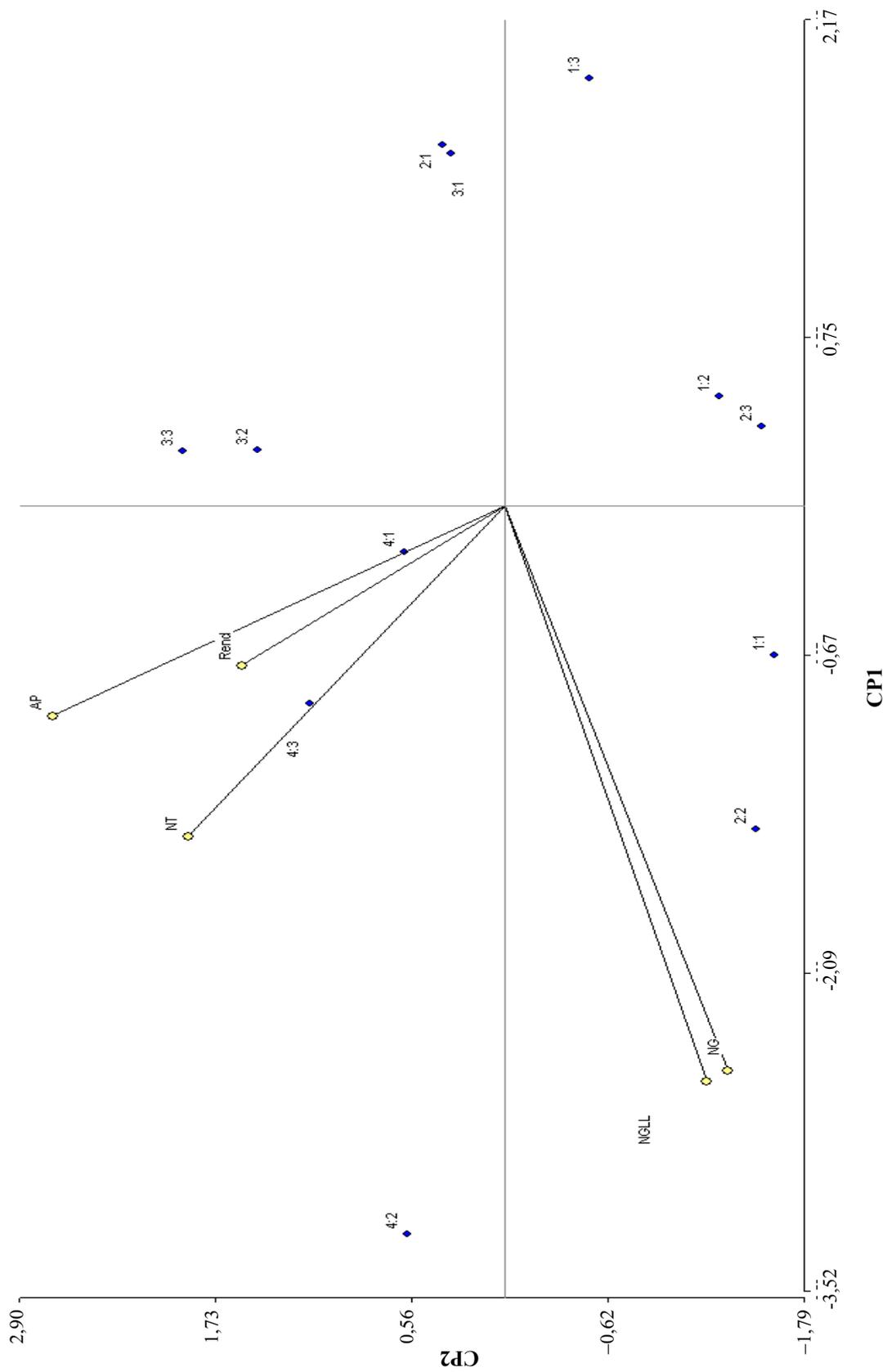


FIGURA 4. Doble representación Biplot del análisis combinado de localidades para la interacción DNxDs, utilizando el cultivar CENTAURO.

En Barinas (Figura 3) se observa que el cultivar responde de manera similar que en Guárico, mostrando mejor desempeño con la DN intermedias a alta, es decir DN₃ y DN₄, respectivamente. Al igual que en Guárico, estas DN contribuyen con un mayor crecimiento vegetativo afectando la AP y el NT. De forma general menores DN afectan negativamente el rendimiento de granos. Ya para el análisis combinado de ambas localidades (Figura 4) el análisis de componentes principales corroboró lo antes dicho. El cultivar CENTAURO muestra mejor desempeño del rendimiento de granos, mayor crecimiento vegetal AP y NT, incluso de NGLL y NG, cuando se utilizan DN intermedias a altas, como respuesta de la planta a los niveles adecuados de N en el suelo, esto hace evidente que entre las variables ambientales más importante la DN es la que cobra mayor importancia para evaluar el desempeño de cultivares de arroz, en virtud de la importancia de este elemento en los procesos fisiológicos (morfogénesis, fotosíntesis, senescencia y crecimiento foliar) como lo reportaron De Datta (1981); Rico *et al.* (1982); Rodríguez *et al.* (2002); (Fageria *et al.* 2003).

Sin embargo, se hace necesario continuar los estudios con el fin de determinar la época y forma de aplicación, así como la eficiencia de asimilación de este nutriente por parte de los nuevos cultivares con alto potencial de productividad.

CONCLUSIONES

- El cultivar CENTAURO demostró alto potencial de rendimiento (kg ha⁻¹) en las principales zonas de producción del país (Guárico, Portuguesa y Barinas).
- Responde favorablemente en rendimiento de granos (kg ha⁻¹) a baja Ds (80 kg ha⁻¹). Igualmente, cuando se utiliza DN mínima 120 kg ha⁻¹ y máxima 160 kg ha⁻¹.
- Se pudo comprobar que el análisis de componentes principales y el empleo de las doble representaciones (Biplot) son de gran utilidad para representar la interacción de ambos factores (DsxDN).

RECOMENDACIÓN

Realizar un manejo de fertilizante nitrogenado específico para cada localidad, en tal sentido, se recomienda para Guárico dosis mínima de 120 y máxima de 200 kg ha⁻¹, Barinas mínimo 120 y máximo 160 kg ha⁻¹ y en Portuguesa dosis media de 120 kg ha⁻¹, aplicada en forma fraccionada antes de los 50 DDG para el

ciclo de riego. Igualmente, se recomienda acompañar esta práctica con nivelación del terreno y el uso de semilla certificada, entre otras.

AGRADECIMIENTO

Por su valiosa colaboración, conducción de los ensayos y recolección de la información al equipo técnico de arroz: Paulo Abreu (Guárico), Reinaldo Méndez, César Barrientos, Yolenny Gómez (Barinas); Neida Ramos, Edith Hernández y Edgar Rodríguez (Portuguesa).

BIBLIOGRAFÍA

- Bernardo, R. 2002. Breeding for quantitative traits in plants. Woodbury: Stemma Press. 147-169 pp.
- Counce, P. 1987. Asymptotic and parabolic yield and linear nutrient content responses to rice population density. *Agronomy Journal*, Madison. 79(5):864-869.
- Cuevas-Pérez, F., L. Berrio, D. González, F. Correa-Victoria and E. Tulande. 1995. Genetic improvement in yield of semidwarf rice cultivars in Colombia. *Crop Science*, Madison, 35(3):725-729.
- David, C. and K. Otsuka. 1994. *Modern Rice Technology and Income Distribution in Asia*. Lynne Rienner Publishers, Colorado. United States of America. 475 p.
- De Datta, S. K. 1981. *Principles and Practices of Rice Production*. International Rice Research Institute (IRRI). Los Baños. Philippines. 618 p.
- De Datta S., E. Craswell, R. Filley, J. Calabio and F. García. 1981. Alternative strategies for increasing nitrogen fertilizer efficiency in wetland rice soil. Annual International Rice Research. Conference, april 27 de may 1. International Rice Research Intitute (IRRI), Los Baños-Philippines.
- De Datta, S. and F. Broadbent. 1988. Methodology for evaluating nitrogen utilization efficiency by rice genotypes. *Agronomy Journal*, Madison, 80:793-798.
- Fageria, N. K., N. Slaton and V. Baligar. 2003. Nutrient management for improving lowland rice productivity and sustainability. *Advances in Agronomy*. 80:63-152.
- Gindri, S., M. Souza e V. Mussoi. 1996. Curva de resposta à aplicação de nitrogênio para quatro genótipos de arroz irrigado. *Lavoura arrozeira*. 49:3-6.

- Hotelling, H. 1933. Analysis of a complex of statistical variables into principal components. *Journal of Educational Psychology*. 24:417-441.
- Infeld, J. e E. P. Zonta. 1987. Densidade na BR-IRGA 411. **In:** Reunião da cultura do arroz irrigado, 14. Pelotas. Anais. Pelotas: Embrapa-CPATB/UFPel, 168-172 pp.
- InfoStat, 2002. InfoStat Profesional. Software versión 1.1. estadística. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Kumura, A. 1956. Studies on the effect internal nitrogen concentration of rice plant on the constitutional factors of grain yield. *Japan. Proc. Crop. Sci. Soc.* 24:177-180.
- Martínez, P. 1998. Situación del cultivo del arroz en Venezuela. Fundación Polar, 1er Ed. 39 p.
- Páez, O. 1991. El cultivo de arroz: densidad de siembra, control de malezas y fertilización. FONAIAP Divulga 36:26-28.
- Páez, O. y C. Barrios. 1995. Efecto de la interacción densidad de siembra-lamina de agua sobre el crecimiento, desarrollo y producción de arroz en época de verano. *Rev Fac de Agro.* 12:25-45.
- Páez, O., G. Rico y L. Velásquez. 2004. El Cultivo de Arroz en Venezuela. Nutrición y Fertilización en Arroz. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Maracay, Venezuela. 202 p. (Serie manuales de cultivo INIA N° 1).
- Pedroso, B. 1987. Densidade e espaçamento entre linhas para arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado. *Lavoura Arrozeira*, Porto Alegre. 40(370):6-6.
- Pulver, E. y P. Jennings. 1997. El papel de Fundarroz en la industria arrocera en Venezuela. Mimeografiado. 17 p.
- Ramalho, M. A., J. B. Santos e C. A. Pinto. 2000. Genética na agropecuária Lavra. Lavras: UFLA. 404 p.
- Rieffel, N., S. Ferreira Da Silva, P. Gaedke, P. Menezes e C. Paim Mariot. 2000. Resposta de genótipos de arroz irrigado ao arranjo de plantas. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília. 35(12):2 383-2 390.
- Rico, G. y S. K. De Datta. 1982. Diferencia varietal del arroz en la utilización del N del suelo, bajo condiciones de riego, usando ¹⁵N. *Agronomía. Trop.* 32(2):171-185.
- Rico, G., D. Pérez, J. Ledezma, J. Parra y H. Agrinzones. 1992. Efectos de diferentes niveles de nitrógeno y fósforo en variedades modernas de arroz bajo condiciones de inundación en suelos pesados. *Agronomía Trop.* 42(1-2):41-52.
- Rodríguez, H., L. Arteaga, R. Cardona, M. Ramón y L. Alemán. 2002. Respuesta de las variedades de arroz "Fonaiap 1" y "Cimarrón" a dos densidades de siembra y dos dosis de nitrógeno. *Bioagro* 14(2):105-112.
- Statistical Analysis System. 2002. SAS Institute Inc. Guide for personal computers. Release 9.1.3. USA.
- Scivittaro, W. e M. Machado 2003. Adubação e calagem para a cultura do arroz irrigado. **In:** Gomes A., y Magalhães Junior, A. (Org). Arroz irrigado no Sul do Brasil. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. Cap. 9:259-303 pp.
- Silva Da Souza, L., H. Bohnen, E. Marcolin, V. Regina, M. Macedo e E. Pocojeski. 2007. Resposta a doses de nitrogênio e avaliação do estado nutricional do arroz irrigado. *Revista Brasileira Agrociência*, Pelotas, 13(2):189-194.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *Xanthomonas albilineans* (Ashby) DOWSON EN VENEZUELA, AGENTE CAUSAL DE LA ESCALDADURA FOLIAR DE LA CAÑA DE AZÚCAR¹

MOLECULAR DIAGNOSIS OF *Xanthomonas albilineans* (Ashby) DOWSON IN VENEZUELA, THE CAUSAL AGENT OF LEAF SCALD OF SUGARCANE¹

Beatriz Alvez*, Jeismar Carballo***, Guillermina Alonso** y Maira Oropeza**

¹Trabajo financiado por el proyecto de la Ley Orgánica de Ciencia Tecnología e Innovación (LOCTI), a través de la empresa GANBARO C.A y Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la UCV, otorgado a GA (03-7327).

*Estudiante de postgrado en Botánica y **Profesoras. Universidad Central de Venezuela (UCV). Facultad de Ciencias. Instituto de Biología Experimental. Caracas. Venezuela. ***Investigadora. IDEA. Departamento de Ciencia y Tecnología para la Salud. Correo electrónico: maira.oropeza@ciens.ucv.ve

RESUMEN

La escaldadura foliar (EF) causada por *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, es una de las enfermedades de mayor importancia en el cultivo de la caña de azúcar, *Saccharum* sp., ocasionando pérdidas estimadas entre 90-100% de la producción. El uso de la reacción en cadena de la polimerasa (por sus siglas en inglés PCR) como herramienta de diagnóstico de fitopatógenos se incrementó a nivel mundial dada su rapidez, sensibilidad y especificidad. Dada la importancia que tiene esta enfermedad en Venezuela, se llevó a cabo el diagnóstico de la bacteria a partir de plantas de caña de azúcar sintomáticas, empleando pruebas microbiológicas, bioquímicas y moleculares. Utilizando diversos métodos de purificación se obtuvieron aislados bacterianos, los cuales se sometieron a análisis fenotípicos y bioquímicos, así como a ensayos de PCR con iniciadores específicos y las secuencias consenso repetitivas intragénicas de enterobacterias (siglas en inglés ERIC-PCR). Con el método de macerado de hojas se obtuvieron 50 aislados, de los cuales 14 se seleccionaron por pruebas microbiológicas y bioquímicas, de estos, sólo tres cepas fueron identificadas como *X. albilineans*. Este resultado se corroboró al obtener por PCR la banda esperada de 360 pb con los iniciadores específicos sólo en estos tres aislados. Finalmente, con la técnica de genotipificación ERIC-PCR se obtuvieron patrones de bandas para las bacterias identificadas como *X. albilineans* que no son similares a los descritos por otros autores en otras regiones del mundo. Este trabajo representa la primera genotipificación de aislados de *X. albilineans* en Venezuela.

Palabras Clave: *Saccharum* sp.; pruebas bioquímicas; PCR; genotipificación.

SUMMARY

Leaf scald caused by *Xanthomonas albilineans*, is one of the most important diseases in sugarcane, *Saccharum* sp., which causes serious economical losses estimated between 90-100%. The use of PCR as a diagnostic tool for plant pathogens has increased because of its speed, sensitivity and specificity. Given the importance of leaf scald in Venezuela, in this work we carried out the diagnosis of *X. albilineans* from symptomatic sugarcane plants, using microbiological, biochemical and molecular methods. Bacterial isolates were obtained using different methods of purification. These isolates were then subjected to phenotypic and biochemical analysis, PCR with specific primers and ERIC PCR. With the method of macerated leaves 50 isolates were obtained, out of which 14 were selected for biochemical tests. From these 14 isolates only three strains were identified as *X. albilineans* by microbiological and biochemical tests. These results were confirmed by PCR by obtaining the expected band of 360 bp using specific primers. Finally, the ERIC-PCR banding patterns obtained for the isolates identified as *X. albilineans* were found to be different to those described by other authors in other regions. This work represents the first genotyping assay of isolates of *X. albilineans* in Venezuela.

Key Words: *Saccharum* sp.; genotipification; biochemical tests; PCR.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar, *Saccharum* sp., es uno de los principales rubros agrícolas que se cultivan en Venezuela, no solo por los volúmenes de producción, sino, por las áreas sembradas. Además, es importante fuente nutricional de carbohidratos (Cova *et al.*, 2006). La transcendencia de este cultivo puede ser atribuida a sus múltiples usos, principalmente como materia prima en la producción de azúcar y alcohol (Silva *et al.*, 2005).

En este cultivo, las enfermedades constituyen uno de los principales factores que afectan la producción azucarera nacional. En los últimos años aumentaron las poblaciones de nuevos patógenos que lo afectan, además, se diseminaron los que existían (Cova *et al.*, 2006). La escaldadura foliar (EF) causada por *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, es una de las enfermedades de mayor relevancia para este cultivo, por sus efectos sobre el rendimiento, la calidad de los jugos y las elevadas pérdidas que ocasiona en su fase aguda, estimadas entre el 90-100% de la producción (Ricaud y Ryan, 1989; Hoy y Grisham, 1994).

En Venezuela, la enfermedad se detectó en el año 1968, en un material (variedad B60321) proveniente de la Estación Experimental de Barbados, con los síntomas característicos de la EF de la hoja. Posteriormente, en el año 1973 se advirtió por primera vez los síntomas de la enfermedad en plantaciones de los estados Portuguesa y Aragua. Con base en los síntomas observados en campo, en el comportamiento de la bacteria en medios de cultivos selectivos, observaciones al microscopio óptico y pruebas de patogenicidad (Ordosgoitti *et al.*, 1977) se determinó que el responsable de dicha sintomatología era *X. albilineans*.

La presencia de este patógeno en los cañaverales venezolanos fue confirmada por Jiménez y Contreras (2004) en los estados Lara y Yaracuy, cuando observaron plantas con estrías blanquecinas de bordes bien definidos a nivel foliar y haces fibrovasculares de coloración rojiza en los cortes longitudinales de tallos. Mediante estos síntomas, pruebas de patogenicidad, bioquímicas y morfológicas, los autores identificaron al agente casual como *X. albilineans*.

Por otro lado, Carballo *et al.* (2007) estudiaron el efecto de esta infección en la estructura anatómica de la hoja de la caña de azúcar, variedad R8 85-554b; encontrando una disminución notable en el número de cloroplastos de la vaina vascular y en las células del mesófilo, con respecto al control (hojas sanas). Estos resultados concuerdan

con el efecto celular inducido por la bacteria, ya que se reporta que inhibe la replicación del ácido desoxirribonucleico ribosómico (ADNr) plastídico y, por lo tanto, la diferenciación y maduración de cloroplastos; lo cual se refleja en una clorosis de la vaina vascular que origina un efecto macroscópico visto en forma de una línea clara a lo largo de la lámina foliar, del cual se deriva el nombre de la enfermedad (Birch, 2001).

En el 2008, Jiménez y Contreras detectaron *X. albilineans* mediante la técnica ELISA (acrónimo del inglés Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) indirecta y medios selectivos. Para el 2009, los mismos autores evaluaron la respuesta de 11 variedades de plantas de caña de azúcar frente a la EF, empleando dos métodos de inoculación; uno por inyección de una suspensión bacteriana en el nudo del esqueje y el otro por colocación de un algodón impregnado en la suspensión bacteriana en uno de los extremos del esqueje. Este último método fue el que dio mejores resultados, logrando identificar cuatro variedades altamente susceptibles entre las evaluadas.

X. albilineans presenta forma de bastón de 0,25-0,30 x 0,60-1,00 μm , es móvil, con un flagelo polar, es Gram negativa, mucoide, aeróbica y exhibe un tiempo de generación de 3 a 7 d, a una temperatura óptima de crecimiento de 27 °C y máxima de 35 °C; posee resistencia intrínseca a diferentes antibióticos como la novobiocina y la cefalexina (Birch, 2001; Davis *et al.*, 1994; Schaad *et al.*, 2001). El aislamiento *in vitro* en medios de cultivo ha tenido limitaciones prácticas debido a la naturaleza mucoide del patógeno, su lento crecimiento y exigencias nutricionales (Davis *et al.*, 1994).

El uso de la reacción en cadena de la polimerasa (siglas en inglés PCR) como herramienta de diagnóstico de *X. albilineans* se incrementó dada su rapidez, sensibilidad y especificidad, para lo cual se han utilizado iniciadores como los propuestos por Honeycutt *et al.* (1995) quienes diseñaron el iniciador ALA4, que en combinación con el iniciador ILE2 permiten amplificar un segmento de 70 pb, específico para el diagnóstico de *X. albilineans*, aplicado en plantas enfermas y con infecciones latentes. Además, Pan *et al.* (1997) propusieron el uso de los iniciadores ALA4 y L1 que permiten amplificar un fragmento de 360 pb de la región espaciadora interna transcrita (por sus siglas en inglés ITS) del ADN en aislamientos representativos de los diferentes serovares.

Las técnicas moleculares pueden ser empleadas para clasificar a los microorganismos en grupos taxonómicos o clonales estrechamente relacionados o divergentes.

Entre estas metodologías se encuentra ERIC-PCR (Consenso intergénico repetitivo de enterobacterias, por sus siglas en inglés), que utiliza iniciadores que reconocen las secuencias conservadas ERIC (secuencias extragénicas, cortas, repetidas y esparcidas en el genoma bacteriano), permitiendo amplificar regiones correspondientes a los segmentos que separan dichas secuencias. Así, el polimorfismo generado dependerá de la variedad en la distribución de las repeticiones y de la distancia entre las secuencias ERIC dentro del genoma (Vilchez y Alonso, 2009).

La combinación de ensayos bioquímicos con pruebas moleculares se utilizó con éxito en nuestro país para la caracterización de especímenes bacterianos, aplicados a muestras hospitalarias (Rivas *et al.*, 2006; Araque *et al.*, 2008); aunque para la identificación de este patógeno en específico se emplearon técnicas microbiológicas, pruebas de patogenicidad, microscopía electrónica y pruebas serológicas, entre otras; que están siendo desplazadas por las técnicas moleculares debido a las ventajas que estas últimas confieren.

Dada la importancia que tiene esta enfermedad en los cultivos de caña de azúcar en Venezuela, este estudio tuvo como objetivo llevar a cabo el diagnóstico molecular de *X. albilineans* a partir de plantas de caña de azúcar sintomáticas e identificar los aislados por características morfológicas, bioquímicas y pruebas moleculares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de bacterias a partir de plantas sintomáticas

Se emplearon seis plantas de caña de azúcar de las variedades “V 78-1” (variedad reportada como resistente), “C 266-70”, “CC 8592” y “RB 855546” suministradas por la Estación Experimental Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Yaritagua, que presentaron la sintomatología característica de la EF de la hoja. Las muestras para el aislamiento de la bacteria se tomaron de cuatro plantas por cada variedad.

Para el aislamiento y preservación de los cultivos puros de *X. albilineans* se utilizó el medio nutritivo y medio diferencial agar YSP (Schaad *et al.*, 2001) y el medio semiselectivo D5 (Kado y Heskett, 1970).

Se efectuaron diferentes procedimientos para el aislamiento de la bacteria patógena, a partir de muestras

foliares y de tallos infectados, los cuales se describen brevemente:

1. Se tomó un entrenudo de la parte media de los tallos, y los tejidos se desinfectaron con alcohol 70%. Efectuando cortes transversales, se impregnaron sellos de éstos, en el medio de cultivo semiselectivo D5 (Huerta *et al.*, 2003).
2. Usando un escarpelo estéril se extrajo un pequeño trozo de tejido de hoja que presentaba la lesión. Se lavó con agua destilada estéril (ADE) durante 3 min, después se cortó en trozos pequeños y se colocaron directamente en el medio de cultivo semiselectivo sólido D5 (Schaad *et al.*, 2001).
3. A partir de tejido foliar se produjeron cortes y desinfectaron con NaOCl al 2% durante 2 min, se lavó con ADE y se maceraron utilizando 3 ml de ADE. Se inoculó 0,1 ml del macerado en caldo de medio semiselectivo D5 por 3 d, para luego inocularlo en medio de cultivo semiselectivo sólido D5 por agotamiento (tomado y modificado de Jiménez y Contreras, 2004).

El patógeno fue aislado en el medio semiselectivo D5 y luego cultivado en medio nutritivo YSP para la realización de las pruebas bioquímicas.

En las pruebas microbiológicas y moleculares se emplearon como controles una cepa de *Escherichia coli* y una cepa de *X. campestris*, donadas por el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM) del Instituto de Biología Experimental de la Universidad Central de Venezuela, Caracas-Venezuela.

Pruebas microbiológicas y bioquímicas

Se realizaron las siguientes pruebas según lo descrito por Díaz (2003): tinción de Gram, actividad catalasa, actividad oxidasa, actividad ureasa, crecimiento en agar MacConkey, crecimiento en agar Kligler, producción de indol, hidrólisis de gelatina, hidrólisis de esculina, hidrólisis de almidón, fermentación de azúcares, descarboxilación de aminoácidos (lisina, ornitina, arginina) y utilización de citrato, glucosa y lactosa.

Pruebas moleculares

Para la extracción de ADN se empleó el método de Gomes *et al.* (2000). Los cultivos crecieron en 5 ml de caldo nutritivo con 10% de glicerol (Promega) a 27 °C. Después de 7 d, se tomaron 1,5 ml y fueron centrifugados

a 13 000 x g durante 5 min. El sedimento se resuspendió en 200 µl de solución Tris 0,1 M (Sigma-Aldrich), añadiendo 200 µl de solución de lisis NaOH 0,2 N (Riedel De Haën) y SDS 1% (Sigma-Aldrich), mezclado con 700 µl de fenol (Sigma-Aldrich)/cloroformo (Riedel De Haën)/alcohol isoamílico (Sigma-Aldrich; 25:24:1 v/v/v).

El homogenizado se centrifugó 13 000 x g por 5 min. Al sobrenadante se añadieron 700 µl de etanol frío al 95% (Riedel De Haën) y se centrifugó a 13 000 x g durante 5 min, luego se lavó con etanol 70% (Riedel De Haën) y se centrifugó nuevamente. El precipitado de ADN fue secado y vuelto a suspender en 50 µl de ADE.

El ADN aislado fue sometido a electroforesis en geles de agarosa al 0,8% (Sigma-Aldrich) y visualizado con Bromuro de Etidio 10 µg ml⁻¹ (Sigma-Aldrich), con un transiluminador (GelDoc 1 000, BIORAD). La estimación de la concentración y la pureza del ADN extraído se realizó mediante el uso de un espectrofotómetro Genesys 10 Bio usando la relación de DO 260/280 (Sambrook y Russell, 2001).

Las reacciones de PCR para amplificar, tanto la región del ADN que codifica para el ARN ribosomal, como la región intergénica ribosomal, se realizó en un volumen final de 25 µl con Buffer de reacción 1 X (Promega), 2 mM MgCl₂ (Promega), 0,2 mM dNTP's (Promega), 2 µM Iniciadores (Promega), 10 ng ADN de la muestra bacteriana y 2,5 U de Taq Polimerasa (Promega). Las amplificaciones se ejecutaron en un termociclador Perkin Elmer GeneAmp PCR System 2400. Los fragmentos amplificados fueron visualizados con electroforesis en geles de agarosa 1,8% (Sigma-Aldrich), en un transiluminador (GelDoc 1000, BIORAD) mediante el programa Multi-Analyst[®]/PC versión 1.1 (BIORAD).

La amplificación de la región del ADN que codifica el ARN ribosomal 16S se efectuó según el protocolo descrito por Lu *et al.* (2000). Los iniciadores universales para bacterias utilizados fueron: U1: 5'-CCAGCAGCCG CGGTAATACG-3' y U2:5'-ATCGG(C/T)TACCTTGT TACGACTTC-3', que generan productos de 996 pb y 100 pb, con las siguientes condiciones: desnaturalización 1 min a 94 °C, hibridación 1 min a 48 °C, y elongación 2 min a 72 °C (35 ciclos).

La identificación de la bacteria *X. albilineans* se realizó según Pan *et al.* (1997), utilizando los iniciadores ALA4: 5'-CCCGACTGGCTCCACCACTG-3' y L1: 5'-CAAG GCATCCACCGT-3'. Estos iniciadores amplifican la región del ADN-ITS ubicada entre los genes que codifican los ARN ribosomal 16S y 23S, y generan una banda

específica para *X. albilineans* de 360 pb, con las siguientes condiciones: desnaturalización 1 min a 95 °C, hibridación 1 min a 43 °C, elongación 30 seg a 72 °C (30 ciclos).

Para identificar posibles variaciones de *X. albilineans* se amplificaron las regiones repetidas (ERIC), según el protocolo descrito por Lopes *et al.* (2001). Los iniciadores que se utilizaron, los cuales hibridan en las regiones repetidas dispersas en el genoma bacteriano, fueron ERIC1: 5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3' y ERIC2: 5'-AGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3', con las siguientes condiciones: desnaturalización 1 min a 94 °C, hibridación 1 min a 50 °C, elongación 1 min a 65 °C (35 ciclos).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento de bacterias a partir de plantas sintomáticas

Al aislar la bacteria mediante la metodología descrita por Schaad *et al.* (2001); Huerta *et al.* (2003); Jiménez y Contreras (2004), se encontró en todos los casos una alta cantidad de otros microorganismos contaminantes, como hongos y bacterias saprófitas con morfologías diferentes, a pesar de haber empleado el medio semiselectivo D5 (Kado y Heskett, 1970).

Con el procedimiento de macerado de hojas (Jiménez y Contreras, 2004) no se encontró cantidades tan elevadas de contaminantes fúngicos por lo que se decidió utilizar este método para los aislamientos de bacterias. Además, el macerado, al causar la ruptura celular de los tejidos foliares, permitió la liberación de las células bacterianas con mayor eficiencia que al colocar los tallos o los trozos de hojas en contacto con el agar.

El medio semiselectivo D5 formulado por Kado y Heskett en 1970, impidió el crecimiento de bacterias de los géneros *Erwinia*, *Pseudomonas* y *Corynebacterium*, porque el contenido de sulfato de amonio de este medio altera los componentes de la superficie y de la membrana celular de estas bacterias. Sin embargo, no inhibe el crecimiento de los hongos filamentosos, levaduras y bacterias del género *Agrobacterium*, percibiéndose éstos, al realizar los aislamientos a partir de las plantas de caña de azúcar infectadas.

Con los diferentes procedimientos de aislamiento, utilizando 12 plantas sintomáticas, se obtuvieron aproximadamente 50 colonias que pudieron ser clasificadas

como *X. albilineans*, de acuerdo a sus características fenotípicas: diámetro entre 1 y 2 mm, forma circular, elevación convexa, borde entero, color amarillo y tiempo de generación entre 3 y 7 d.

Pruebas microbiológicas y bioquímicas

Las colonias aisladas de cultivos puros de *X. albilineans*, se sometieron a tinción de Gram y tinción con rojo congo y a las demás pruebas bioquímicas señaladas en la sección de materiales y métodos. Se encontró que de los 50 aislados analizados, 14 resultaron ser bastones Gram negativos con morfología de bacilos cortos, presentaron la enzima catalasa con lo cual se protegen frente al peróxido de hidrógeno, tienen como aceptor final de electrones la enzima citocromo c-oxidasa, hidrolizan el almidón, no son fermentadores de lactosa, utilizan la

glucosa como fuente de carbono, características típicas de este género bacteriano.

En cuanto a la intensidad del pigmento xanthomonadina, la velocidad de crecimiento y la mucosidad de las colonias, variaron dependiendo del medio de cultivo; colorearon amarillas, crecieron entre 3 y 7 d y no fueron mucoides. Los resultados de estas pruebas indicaron que los 14 aislados pertenecen al género *Xanthomonas* (ver Cuadro).

Pruebas moleculares

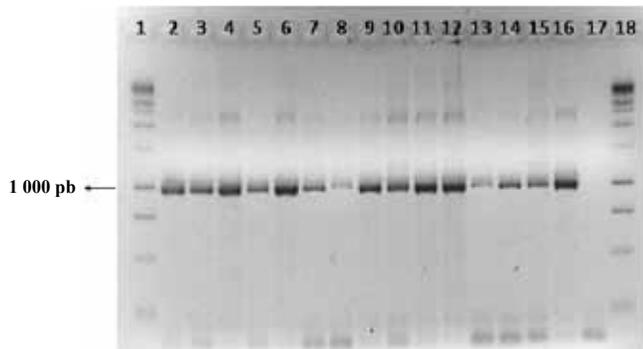
El método de Gomes *et al.* (2000) resultó apropiado para la extracción del ADN de las colonias que arrojaron resultados positivos para las pruebas microbiológicas, bioquímicas y las respectivas cepas controles.

CUADRO. Resultados de las pruebas bioquímicas aplicadas a los aislados bacterianos obtenidos, para su identificación preliminar como *X. albilineans*.

Muestra	Gram	Ca	Ox	Ur	In	Klig	Al	Es	Ge	Cit	Lac	Glu	LDC	ODC	ADH
2	BGN	+	+	-	-	R/A	+	-	d	-	-	+	+	-	+
3	BGN	+	+	-	-	R/A	+	-	-	-	-	+	+	+	+
4	BGN	+	+	-	-	R/A	-	-	d	-	-	+	-	-	+
5	BGN	+	-	-	-	R/A	-	-	-	-	-	+	-	-	-
7	BGN	+	+	-	-	R/A	-	-	-	-	-	+	-	+	-
9	BGN	+	d	-	-	R/A	+	+	d	-	-	+	-	-	+
10	BGN	+	+	-	-	R/A	-	+	d	-	-	+	-	-	-
12	BGN	+	+	-	-	R/A	-	+	-	-	-	+	-	-	-
16	BGN	+	d	-	-	R/A	-	-	-	-	-	+	+	-	-
17	BGN	+	-	-	-	R/A	-	+	-	-	-	+	-	-	-
20	BGN	+	+	-	-	R/A	-	-	-	-	-	+	-	+	-
21	BGN	+	+	-	-	R/A	+	-	-	-	-	+	-	-	+
23	BGN	+	-	-	-	R/A	-	-	d	-	-	+	-	-	-
26	BGN	+	d	-	-	R/A	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>E. coli</i>	BGN	-	-	-	+	A/A	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>X. camp</i>	BGN	+	-	-	-	R/A	-	+	-	-	+	+	-	-	-

E. coli = *Escherichia coli*; *X. camp* = *Xanthomonas campestris*. + = positivo; - = negativo; d = débil; BGN = Bacilo Gram Negativo; A = Amarillo (ácido); R = Rojo (alcalino). Ca: Catalasa; Ox: Oxidasa; Ur: Ureasa; In: Indol; Klig: Kliger; Al: Almidón; Es: Esculina; Ge: Gelatina; Cit: Citrato; Lac: Lactosa; Glu: Glucosa; LDC: Lisina Descarboxilasa; ODC: Ornitina Descarboxilasa; ADH: Arginina Dihidrolasa.

Mediante la amplificación de la región del ADN que codifica la subunidad ribosomal, se verificó la calidad del aislamiento del mismo. La Figura 1 muestra los resultados, observándose un producto de PCR de 996 pb en todos los extractos de ADN bacteriano evaluados.



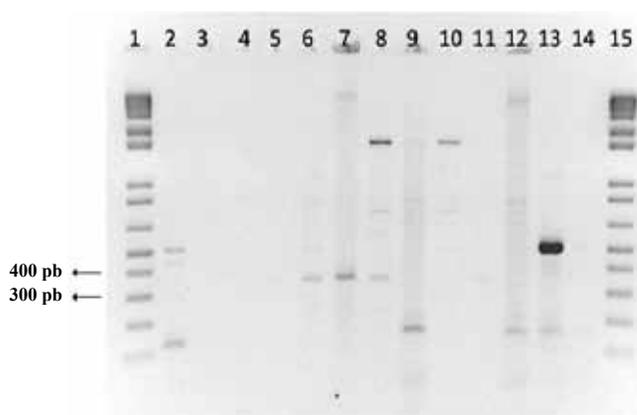
Carriles 1 y 18) marcador de peso molecular 1kb; 2) Muestra 11; 3) Muestra 20; 4) Muestra 21; 5) Muestra 23; 6) Muestra 26; 7) Muestra 3; 8) Muestra 4; 9) Muestra 1; 10) Muestra 16; 11) Muestra 2; 12) Muestra 5; 13) Muestra; 14) Muestra 8; 15) Muestra 12; 16) Muestra *E. coli*; 17) Control negativo.

FIGURA 1. Amplificación del gen 16S con los iniciadores U1 y U2.

Los iniciadores ALA4 y L1, permitieron la identificación de *X. albilineans* al amplificar una banda de 360 pb específica para esta bacteria, aunque también amplifican fragmentos de diferentes tamaños de otras bacterias saprófitas de caña de azúcar.

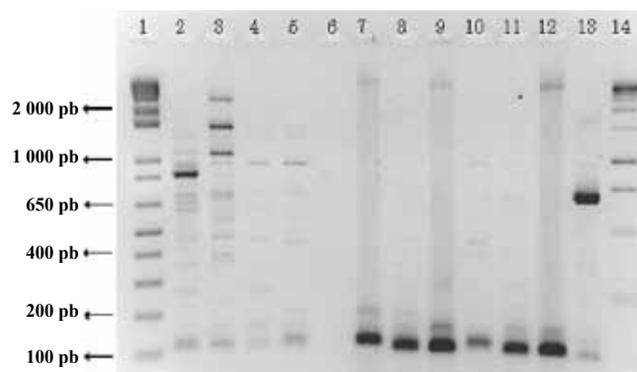
De las catorce bacterias Gram negativas aisladas de plantas de caña de azúcar, evaluadas por PCR con los iniciadores ALA4 y L1, solo tres fueron identificadas como *X. albilineans*, que corresponden a los aislados 9, 10 y 12. En la Figura 2 se muestra la banda amplificada de aproximadamente 360 pb (carriles 6, 7 y 8) que corresponde con lo descrito para *X. albilineans*. El ADN de los otros aislados bacterianos generó amplificadas de tamaño diferente.

La amplificación del ADN de la bacteria *X. albilineans* mediante la utilización de iniciadores ERIC permitió evaluar su relación con otros aislados de la misma especie, al comparar los patrones obtenidos en este trabajo, con los descritos por Lopes *et al.* (2001); Silva *et al.* (2005). La Figura 3 muestra los resultados obtenidos. Con el ADN proveniente de la muestra 9 no se obtuvo banda (carril 6), mientras que con las muestras 10 y 12 se observan 2 bandas entre 200 y 100 pb (carriles 7 y 8).



Carriles 1 y 15) marcador de peso molecular 1 kb plus; 2) *X. campestris*. 3) Muestra 6; 4) Muestra 7; 5) Muestra 8; 6) Muestra 9; 7) Muestra 10; 8) Muestra 12; 9) Muestra 13; 10) Muestra 14; 11) Muestra 17; 12) Muestra 18; 13) *E. coli*; 14) Control negativo.

FIGURA 2. Amplificación de la región conservada de *X. albilineans* con los iniciadores específicos ALA4 y L1.



Carriles: 1 y 14) marcador de peso molecular; 2) *X. campestris*; 3) Muestra 6; 4) Muestra 7; 5) Muestra 8; 6) Muestra 9; 7) Muestra 10; 8) Muestra 12; 9) Muestra 13; 10) Muestra 17; 11) Muestra 14; 12) Muestra 18; 13) *E. coli*.

FIGURA 3. Amplificación de regiones consenso intergénicas repetitivas de enterobacterias con los iniciadores ERIC1 y ERIC2.

Dichos aislados, identificados en este trabajo como *X. albilineans* (ver Cuadro y Figura 2), generaron patrones de bandas diferentes a los descritos previamente por Lopes *et al.* (2001) y Silva *et al.* (2005), los cuales a su vez no mostraron similitud entre sí. El resto de los aislados bacterianos, pertenecientes a otros grupos taxonómicos, presentaron patrones diferentes, tal como se esperaba.

Los métodos moleculares, en conjunto con los métodos microbiológicos tradicionales, representan la mejor aproximación disponible hoy día para la correcta identificación de los patógenos de plantas que ocasionan grandes daños a los cultivos de importancia económica. En Venezuela no se han implementado estos estudios para determinar la presencia de *X. albilineans* en muestras de campo de plantas de caña de azúcar. En este trabajo se evaluaron diferentes metodologías para la extracción de ácidos nucleicos y posterior aplicación de diagnóstico molecular de la bacteria en 12 plantas sintomáticas tomadas del campo y mantenidas en vivero.

La elevada cantidad de contaminantes provenientes del aislamiento de la bacteria utilizando diversas estrategias, se debió a las condiciones del medio empleado, ya que se trata de un medio semiselectivo, en el cual el único factor que limita el crecimiento de las bacterias saprófitas es la fuente de carbono celobiosa (Kado y Heskett, 1970). Además, se debe considerar que en la superficie de las hojas, la presencia de microorganismos es muy elevada, siendo luego capaces de crecer en este medio.

En el interior de los tallos (método de los sellos) es más probable que sólo se encontrara *X. albilineans* por su carácter sistémico (Jiménez y Contreras, 2004), a pesar de esto, la presencia de hongos en los tallos resultó elevada. Otro inconveniente presentado por esta metodología fue la necesidad de sacrificar una planta completa para el aislamiento. También, se debe considerar que el alto contenido de contaminantes pudo ser debido al método de desinfección usado, el cual no puede ser muy acentuado, porque se podría eliminar la bacteria que se está intentando aislar.

Finalmente, la bacteria exhibe un tiempo de generación de 3 a 7 d, y ésto promueve que sea desplazada por hongos y bacterias de crecimiento más rápido (Huerta *et al.*, 2003). A pesar de estos inconvenientes, en este trabajo se logró el aislamiento de bacterias que presentaban fenotipo similar a *X. albilineans*, realizando una desinfección superficial del material con NaOCl al 2% y/o utilizando mayor tiempo de exposición al desinfectante. Dado que los mejores resultados se obtuvo con la técnica del macerado de hojas, se seleccionó este método para el aislamiento de la bacteria en todas las plantas que presentaban síntomas.

Las bacterias aisladas fenotípicamente fueron similares a lo reportado para *X. albilineans* por diversos autores (Ordosgoitti *et al.*, 1977; Birch, 2001; Schaad *et al.*, 2001; Jiménez y Contreras, 2004). Sin embargo, se

observó diferencias en el crecimiento y algunas características de la bacteria en los medios D5, YSP y YDC, tales como, variaciones en la intensidad del pigmento amarillo, la velocidad de crecimiento y la mucosidad.

Con la aplicación de las pruebas bioquímicas se seleccionaron 14 aislados como posibles cepas de *X. albilineans* que presentaban características bioquímicas típicas para este género bacteriano (Davis *et al.*, 1994; Schaad *et al.*, 2001; Jiménez y Contreras, 2004). *Xanthomonas* es cosmopolita, debido a que infecta una amplia variedad de cultivos. Además, presenta una gran variabilidad genética entre especies, así como dentro de la misma especie. Esto apoya los resultados obtenidos con las pruebas bioquímicas, que a pesar de que este género y específicamente la especie *X. campestris* tiene un patrón característico, no todas las cepas mostraron la misma respuesta ante las diversas pruebas bioquímicas a las que fueron sometidas.

En el caso específico del aislado 9, difiere de las demás muestras y del perfil bioquímico de *X. albilineans* en general, pues hidroliza el almidón, es arginina dihidrolasa positiva y oxidasa débil. Con respecto a la hidrólisis del almidón, existen ciertos microorganismos que son capaces de procesar esta macromolécula para poder trasladarla al interior celular y emplearla como fuente de energía, es el caso de los aislados 2, 3, 9 y 21. La arginina dihidrolasa es un enzima que actúa sobre la L-arginina produciendo alcalinidad como resultado final, comúnmente encontrada en bacterias del género *Pseudomonas*.

Sobre este aspecto, cabe mencionar que una de las clasificaciones de *X. campestris* fue *Pseudomonas albilineans* (Ashby) Krasílnikov (Dye y Lelliott, 1974), con lo cual puede especularse que las variaciones en los resultados de esta prueba en particular tienen que ver con las similitudes que pueden tener estos dos géneros. La enzima citocromo c-oxidasa reacciona debido a la presencia de un sistema citocromooxidasa que activa la oxidación del citocromo, reducido por el oxígeno molecular que produce agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana. El oxígeno actúa, en consecuencia, como aceptor final de electrones en la cadena transportadora de electrones.

Por lo general, el sistema citocromo oxidasa sólo se encuentra en los organismos aerobios, algunos anaerobios facultativos y, excepcionalmente, en algún microaerófilo (*Vibrio fetus*). *X. campestris* es un organismo aerobio que por lo general no presenta esta enzima, como los aislados 5, 17 y 23, pero por su alta variabilidad

genética pueden haber ciertas cepas de la misma especie que presenten una reacción positiva al colocarlas en presencia de aceptores finales de electrones artificiales. Los 14 aislados que se encontraron dentro del perfil fueron entonces utilizados para el análisis molecular (ver Cuadro).

Con el método empleado se logró un aislamiento eficiente de ADN, a pesar de la presencia del exopolisacárido xanthano en grandes cantidades en todas las especies de *Xanthomonas*. Este polisacárido está involucrado en la asociación de la bacteria con la planta, pudiendo también identificarse como factor de patogenicidad, protección contra la desecación y formación de biopelículas. La amplificación mediante PCR de la región del ADN que codifica la subunidad ribosomal pequeña 16S, fue la forma más apropiada para verificar la calidad del ADN extraído (Figura 1). Este resultado permitió demostrar que el extracto está libre de compuestos que pudiesen inhibir la reacción de PCR.

Para la identificación molecular de la bacteria se evaluaron los 14 aislados bacterianos, de los cuales tres amplificaron la banda de 360 pb, indicando que pueden ser *X. albilineans* (Figura 2, carriles 6, 7 y 8). La mayoría de las bacterias aisladas amplificaron al menos una banda con los iniciadores específicos, debido a que uno de los iniciadores utilizados hibrida con el ADN de los genes ribosomales de 300 especies bacterianas (Jensen *et al.*, 1993), por lo cual se observaron distintos patrones de bandas en otras bacterias (Carriles 2, 9, 10, 12, y 13). Estos aislados serán caracterizados en estudios futuros.

Las regiones repetidas en el genoma fueron utilizadas para la identificación y estimación de la diversidad de bacterias (Lopes *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2005; Versalovic *et al.*, 1994). La región consenso intergénica repetida de enterobacterias (ERIC) ha sido una de las herramientas empleadas para caracterizar a *X. albilineans* y para evaluar su diversidad (Lopes *et al.*, 2001). Este organismo se expandió alrededor de todo el mundo, por lo que la variabilidad en las cepas es muy elevada (Swings y Civerolo, 1993; Lopes *et al.*, 2001).

En este trabajo se observaron diversos patrones de bandas para las bacterias aisladas que no son *X. albilineans* (Figura 3). Las bacterias identificadas como *X. albilineans* no generaron patrones comparables a los reportados en la bibliografía, provenientes de bacterias de otras ubicaciones geográficas (Lopes *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2005).

Los resultados obtenidos en este trabajo con patrones de bandas diferentes entre los múltiples aislados, permiten

sugerir que la variabilidad en *X. albilineans* es muy elevada y que generalmente viene relacionada con el lugar en el cual se colecta la muestra, pues, se logró establecer un patrón de identificación para algunas de las muestras aisladas ubicadas en la misma zona.

CONCLUSIÓN

- Las pruebas microbiológicas y bioquímicas permiten una primera aproximación en la identificación de *X. albilineans*. Sin embargo, al realizar el diagnóstico molecular, de los 14 aislados obtenidos a partir de las plantas de caña de azúcar con síntomas de EF, solo en los extractos de ADN de tres aislados se obtuvo la banda amplificada del tamaño correspondiente.
- El análisis mediante ERIC arrojó un patrón diferente para estos aislados, en comparación con los reportados para aislados de Los Angeles, Brasil, Islas Mauricio y Fiji; por lo que es probable que el patrón generado en las colonias analizadas sea específico para *X. albilineans* venezolana.
- Este es el primer trabajo donde se identifica y caracteriza molecularmente esta bacteria en el país.

BIBLIOGRAFÍA

- Araque, Y., J. Vitelli-Flores, A. Ramírez, G. Alonso y V. Rodríguez Lemoine. 2008. Identificación bioquímica y PCR especie-específica de *Burkholderia cepacia* en muestras de origen hospitalario y ambiental en Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiol.* 28:82-89.
- Birch, R. 2001. *Xanthomonas albilineans* and the anti-pathogenesis approach to disease control. *Mol Plant Pathol.* 2:1-11.
- Carballo, J., M. Raymunde y M. Oropeza. 2007. Efecto de la infección de *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, sobre la estructura anatómica de la hoja en caña de azúcar (*Saccharum* sp.) variedad R8 85-554b; XVII Congreso Venezolano Botánica. 20:330-333.
- Cova, J., H. Nass y A. Orozco. 2006. Enfermedades de la caña de azúcar (*Saccharum* spp) presentes en el estado Portuguesa durante el período 2003-2005; CENIAP HOY, N° 10: www.ceniap.inia.gov.ve/pbd/Revistas/Tecnicas/ceniaphoy/articulos/articulos.

- Davis, M., P. Rott, P. Baudin and J. Dean. 1994. Evaluation of selective media and immunoassays for detection of *Xanthomonas albilineans*, causal agent of sugarcane leaf scald disease. *Plant Dis.* 78:78-82.
- Díaz G. 2003. Fundamentos y técnicas de análisis microbiológico. Protocolos de pruebas de identificación bacteriana. Laboratorio de Diagnóstico Clínico. 2º curso (2003-2004). San Fernando de Henares, Madrid, 9-16 pp.
- Gomes, L, K. Roncato, F. Aandrino and F. Almeida. 2000. A simple method for DNA isolation from *Xanthomonas* spp. *Sci Agric.* 57:553-555.
- Honeycutt, R., B. Sobral and M. McClelland. 1995. tRNA intergenic spacers reveal polymorphisms diagnostic for *Xanthomonas albilineans*. *Microbiol.* 141:3 229-3 239.
- Hoy, J. and M. Grisham. 1994. Sugarcane leaf scald distribution, symptomatology, and effect on yield in Louisiana. *Plant Dis.* 78:1 083-1 087.
- Huerta, M., L. Ortega, C. Landeros, L. Fucikovsky y M. Marín. 2003. Respuesta de 10 variedades de caña de azúcar a la EF de la hoja [*Xanthomonas albilineans* (Sabih) Dowson], en la región central costera de Veracruz. *Agrociencia.* 37:511-519.
- Jensen, M., J. Webster and N. Straus. 1993. Rapid identification of bacteria on the basis of polymerase chain reaction-amplified ribosomal DNA spacer polymorphisms. *Appl Environ Microbiol.* 59:945-952.
- Jiménez, O. y N. Contreras. 2004. *Xanthomonas albilineans* agente causal de la escaldadura foliar de la caña de azúcar (*Saccharum* sp.) en los estados Lara y Yaracuy. *Rev Fac Agron.* 21:231-243.
- Jiménez, O. y N. Contreras. 2008. Detección de *Xanthomonas albilineans* agente causal de la escaldadura foliar de la caña de azúcar usando la técnica de ELISA y medios selectivos. *Bioagro.* 20:209-213.
- Jiménez, O. y N. Contreras. 2009. Respuesta de 11 variedades de caña de azúcar a la escaldadura foliar (*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson) y evaluación de dos métodos de inoculación. *Bioagro.* 21:139-142.
- Kado, C. and M. Heskett. 1970. Selective media isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*; *Phytopathol.* 60:969-976.
- Lopes, S., K. Damann and L. Grelen. 2001. *Xanthomonas albilineans* diversity and identification based on Rep-PCR fingerprint. *Curr Microbiol.* 42:155-159.
- Lu, J., C. Perng, S. Lee and C. Wan. 2000. Use of PCR with universal primers and restriction endonuclease digestions for detection and identification of common bacterial pathogens in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol.* 38:2 076-2 080.
- Ordosgoitti, A., A. Manzano y A. Piñero. 1977. La escaldadura de la caña de azúcar en Venezuela. *Agronomía Trop.* 27:235-249.
- Pan, Y., M. Grisham and D. Burder. 1997. A polymerase chain reaction protocol for the detection of *Xanthomonas albilineans*, the causal agent of sugarcane leaf scald disease. *Plant Dis.* 81:189-94.
- Ricaud, C. and C. Ryan. 1989. Leaf scald: Diseases of sugarcane. Major diseases. Eds: Ricaud C, Egan B, Gillaspie A Jr y Hughes C. Amsterdam. The Netherlands; Elsevier Science Publishers; 39-58.
- Rivas, J., C. Redondo y G. Alonso. 2006. Genotipificación de cepas de enterobacterias procedentes de 4 centros de salud del área de Caracas. *Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas.* 9(2):3-7.
- Sambrook, J. and D. Russell. 2001. Molecular cloning a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Third edition, 5.4, 5.14.
- Silva, M., I. Bedendo e M. Casagrande. 2005. Caracterização molecular e patogênica de isolados de *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson agente causal escaldadura da cana de açúcar. *Summa Phytopathol.* 33:341-347.
- Schaad, N., J. Jones and W. Chun. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria, St. Paul: Phytopathological Society Press. 373 pp.
- Swings, J. and E. Civerolo. 1993. *Xanthomonas*. First edition. Chapman y Hall. London. 399 p.
- Vilchez, G. y G. Alonso. 2009. Alcances y limitaciones de los métodos de epidemiología molecular basados

en el análisis de ácidos nucleicos. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 29:6-12.

Versalovic, J., M. Schneider, F. J. De Bruijn and J. R. Lupski. 1994. Genomic fingerprinting of Bacteria Using Repetitive Sequence-Based Polymerase Chain Reaction. *Methods in Molecular and Cellular Biology*. 5(1):25-40.

EFFECTO DEL TRATAMIENTO DE SEMILLA CON ZINC Y ÁCIDO GIBERÉLICO SOBRE LA EMERGENCIA Y EL CRECIMIENTO INICIAL DE LAS PLANTAS DE CAÑA DE AZÚCAR

EFFECT OF SEED TREATMENT WITH ZINC AND GIBBERELIC ACID ON THE EMERGENCY AND INITIAL GROWTH OF SUGARCANE PLANTS

Marcos Rengel*, Fernando Gil** y José Montaña*

*Ingenieros agrónomos. Agri de Venezuela, C. A. y **Fundación Azucarera para el Desarrollo, la Productividad y la Investigación (FUNDACAÑA), respectivamente. Estado Lara. Venezuela.
Correo electrónico: marcos.rengel@yahoo.es, fernandogilm@hotmail.com

RESUMEN

Con la finalidad de comparar la aplicación de una suspensión concentrada a base de zinc (Zn), Teprosyn Zn[®], con el uso de ácido giberélico (ÁG₃) en el tratamiento de semilla y evaluar su efecto sobre emergencia y crecimiento inicial de plantas de caña de azúcar, *Saccharum* spp., var. CP 742005, se condujo un ensayo en la Fundación Azucarera para el Desarrollo, la Productividad y la Investigación (FUNDACAÑA), ubicada en Chivacoa, municipio Bruzual, estado Yaracuy. Para tal fin se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cinco tratamientos y tres repeticiones, donde el primero de ellos correspondió al testigo sin aplicación (T0). Los tratamientos T1, T2 y T3 consistieron en sumergir secciones de tallo de 5 cm de longitud con una yema viable (mini esquejes) por 10 min en soluciones de Teprosyn Zn[®] al 1%, 2% y 3%, respectivamente, mientras que en el último tratamiento (T4) la semilla se sometió a inmersión en una solución de 1 g Activol[®] 100 l agua⁻¹ durante el mismo tiempo. La siembra se realizó en bolsas plásticas negras, utilizando un sustrato obtenido a través de una mezcla de suelo y compost de cachaza en una proporción 1:1. Los datos fueron analizados con el programa Statistix 8. Los resultados indican que el tratamiento de semilla con Teprosyn Zn[®] promovió la emergencia, el crecimiento inicial de raíces, el peso aéreo seco y la producción de materia seca (MS) total de las plantas, favoreciendo el establecimiento del cultivo. La utilización de ÁG₃ sólo afectó la longitud total de raíces.

Palabras Clave: *Saccharum* spp.; híbrido; establecimiento; brotación; suspensión concentrada; Teprosyn Zn[®].

SUMMARY

In order to compare the application of a concentrated suspension based on zinc (Zn), Teprosyn Zn[®], with the use of gibberellic acid (GA₃) in the treatment of seed and evaluate its effect on emergence and early growth of sugarcane plants, *Saccharum* spp., var. CP 742005, a trial was conducted in the Sugar Development Foundation, Productivity and Research (FUNDACAÑA), located in Chivacoa, municipality Bruzual, Yaracuy. For this purpose was used a completely randomized design with five treatments and three replications, the first one corresponded to the control application (T0). Treatments T1, T2 and T3 consisted in immersing stem sections 5 cm long with a viable bud (mini cuttings) for 10 min in solutions of Teprosyn Zn[®] 1%, 2% and 3% respectively, while in the last treatment (T4) seed was subjected to immersion in a solution of 1 g Activol[®]/ 100 l water during the same time. The sowing was performed in black plastic bags using a substrate obtained from a mixture of soil and filter cake compost in a 1:1 proportion. Data were analyzed with the program Statistix 8. The results indicate that seed treatment with Teprosyn Zn[®] promoted the emergence, initial growth of roots, the dry weight and dry matter production (MS) in whole plants, favoring the crop establishment. GA₃ using only affected the total length of roots.

Key Words: *Saccharum* spp.; hybrids; establishment; sprouting; flowable suspension; Teprosyn Zn[®].

INTRODUCCIÓN

El zinc (Zn) es un micronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Marschner, 1995; Alloway, 2008) que tiene un fuerte impacto sobre el avance vegetativo inicial de diferentes cultivos (Rengel y Graham, 1995; Grewal y Graham, 1997), ya que participa en la biosíntesis del ácido indol acético (Anderson y Bowen, 2000; Kirkby y Römheld, 2007), auxina que controla aspectos fundamentales como la elongación celular y el desarrollo radicular de las plantas (Leyser, 1999; Campanoni y Nick, 2005).

La movilidad y disponibilidad del Zn disminuyen sensiblemente en suelos alcalinos (Rico *et al.*, 1995; Singh *et al.*, 2005; Alloway, 2009), donde se requiere de un nivel crítico de Zn para que las raíces de las plantas puedan crecer y funcionar con efectividad (Graham *et al.*, 1992). En estos suelos se presentan con frecuencia síntomas de deficiencia (Cakmak *et al.*, 1999; Singh *et al.*, 2005; Alloway, 2008) que deprimen severamente el crecimiento de las plantas, especialmente del brote (Cakmak *et al.*, 1989).

Las aplicaciones edáficas y foliares, así como el tratamiento de la semilla con diferentes fuentes de Zn (sulfatos y quelatos) han demostrado ser prácticas eficientes en la prevención y corrección de deficiencias de muchos cultivos en suelos alcalinos (Takkar y Walker, 1993; Yilmaz *et al.*, 1997; Alloway, 2009). El tratamiento pre- siembra de semilla con sales inorgánicas no sólo puede promover la germinación bajo condiciones adversas, sino que también estimular el crecimiento y los procesos metabólicos subsecuentes, logrando aumentar el rendimiento final del cultivo (Ashraf y Foolad, 2005).

La caña de azúcar, *Saccharum* spp., requiere de aproximadamente 27 g Zn ha⁻¹ durante las primeras seis semanas del ciclo (Rengel *et al.*, 2010) y dado que la colocación del fertilizante en la proximidad de las raíces que van a desarrollarse permite el uso de dosis relativamente bajas (Alloway, 2008), es de esperar que la impregnación de esquejes pueda proveer la cantidad de Zn necesaria para sustentar el crecimiento inicial y el establecimiento del cultivo. En Venezuela se han obtenido respuestas favorables a la aplicación de Zn mediante el tratamiento de semilla asexual para la producción de plantas de caña de azúcar (Gabaüer, 2009).

Las giberelinas son hormonas que regulan el crecimiento y desarrollo de las plantas (Richards *et al.*, 2001) a través de la promoción de la división y elongación celular (Matusa-Göttgens y Hedden, 2009). El ácido giberélico

(ÁG₃) tiene un importante rol en la modulación de procesos tales como la ruptura de la latencia y el crecimiento de las yemas vegetativas (Sun y Gubler, 2004; Chao *et al.*, 2007). Se ha documentado que la aplicación foliar post emergente de ÁG₃ intensifica la actividad meristemática, estimula el crecimiento de los entrenudos y promueve la producción de sacarosa en el cultivo de la caña (Gonçalves-Martins y de Camargo, 1999; Taiz y Zeiger, 2002). Sin embargo, la información relacionada con el uso de esta hormona en el tratamiento de semilla es escasa.

En virtud de lo antes expuesto, el objetivo del presente trabajo fue comparar la aplicación de una suspensión concentrada a base de Zn con el uso de ÁG₃, mediante el tratamiento de semilla asexual y evaluar su efecto sobre la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas de caña de azúcar var. CP 742005.

MATERIALES Y MÉTODOS

La evaluación se inició en abril de 2006 en el centro de tratamiento de semillas de la Fundación Azucarera para el Desarrollo, la Productividad y la Investigación (FUNDACAÑA), ubicada en la localidad de Chivacoa, municipio Bruzual del estado Yaracuy. Para tal fin se seleccionaron tallos de la caña de 10 m de edad, obteniéndose secciones de 5 cm de longitud (mini esquejes) que contenían una yema viable, previamente tratados con una suspensión de Carboxanilida+Tiocarbamato a una dosis de 2 ml l agua⁻¹.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cinco tratamientos y tres repeticiones para un total de 15 unidades experimentales. El primero de los tratamientos correspondió al testigo, sin aplicación (T0). Los tratamientos T1, T2 y T3 consistieron en sumergir los mini esquejes de la caña por 10 min en soluciones de Teprosyn Zn[®] al 1%, 2% y 3%, respectivamente (ver Cuadro). En el quinto y último tratamiento (T4) los mini esquejes se sometieron a inmersión por el mismo tiempo en una solución de 1 g Activol[®] 100 l agua⁻¹, lo cual es una práctica de rutina para la propagación de semilla asexual en FUNDACAÑA.

El Teprosyn Zn[®] está formulado como una suspensión concentrada a base de Zn al 60% (p/v), aportando 600 g de Zn l⁻¹ del producto comercial. Por su parte, el Activol[®] es un regulador de crecimiento del grupo de las giberelinas, que contiene ÁG₃ como ingrediente activo y se formula en tabletas solubles en agua de 1 g de concentración y una actividad biológica de 92%.

CUADRO. Número y descripción de tratamientos con Teprosyn Zn[®] y ácido giberélico en la caña de azúcar var. CP 742005 en FUNDACAÑA. Estado Yaracuy.

Tratamientos	Descripción
T0	Testigo, sin aplicación
T1	Solución Teprosyn Zn [®] 1% (600 g Zn/100 l)
T2	Solución Teprosyn Zn [®] 2% (1 200 g Zn/100 l)
T3	Solución Teprosyn Zn [®] 3% (1 800 g Zn/100 l)
T4	Solución 1 g Activol [®] 100 l (9,2 mg AG_3 /l)

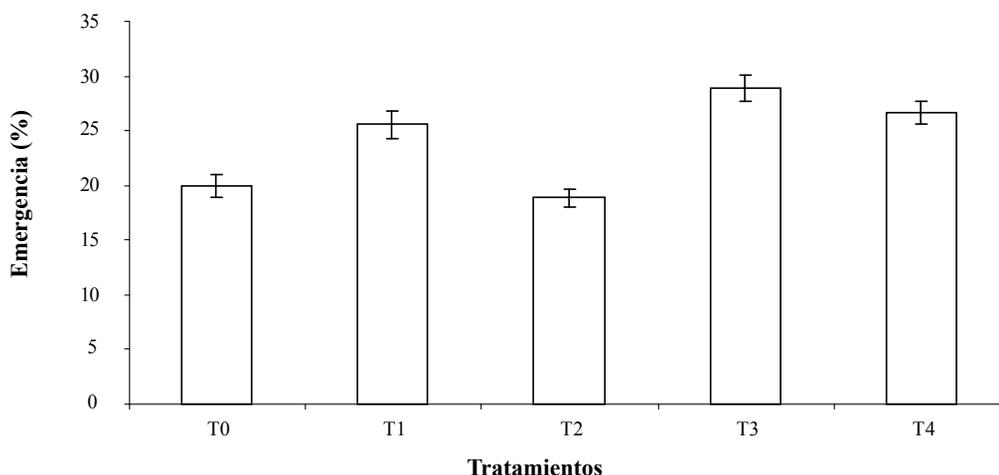
La propagación del material vegetal se realizó en bolsas plásticas negras de 20 cm de diámetro y 40 cm de profundidad, utilizando un sustrato obtenido mediante la mezcla de suelo y compost de cachaza (residuo de la industria del azúcar de caña) en una proporción 1:1. La siembra se realizó el día 25 de abril de 2006 y para ello se llenaron las bolsas con el sustrato a 2/3 partes de su capacidad, colocando los mini esquejes de forma horizontal con las yemas hacia arriba y cubriéndolas con el mismo sustrato hasta llenar completamente dichas bolsas. Todos los tratamientos fueron colocados bajo condiciones semi controladas de luz y temperatura, procediéndose de inmediato a hacer un riego; práctica que se continuó realizando cada 3 d.

La primera evaluación se efectuó 10 días después de la siembra (DDS) y correspondió a la estimación del porcentaje de emergencia en un total de 30 plantas por unidad experimental. A los 34 DDS, las plantas fueron separadas del sustrato a fin de determinar el número y la longitud total de raíces por tratamiento, en una muestra de 10 plantas tomadas al azar en cada unidad experimental, obteniendo el peso seco de raíces y de la parte aérea, luego de secar las muestras en estufa a 78 °C por 48 h hasta llegar a peso constante.

Los resultados fueron analizados mediante el programa Statistix, en su versión 8.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra las diferencias significativas entre los tratamientos para la emergencia a los 10 DDS, siendo T3 el tratamiento mas efectivo, con un 28,89% de brotes emergidos correspondiente a un aumento de 44,45% sobre el testigo (T0); mientras que los tratamientos T4 y T1 alcanzaron una emergencia de plantas de 26,67% y 25,56%, respectivamente, sin superar estadísticamente a T0. Es importante señalar que T2 registró una muy baja e inesperada respuesta (18,89% de emergencia), lo cual pudo obedecer a la siembra de mini esquejes del tercio basal de los tallos seleccionados para la propagación, dando como resultado la incorporación de yemas con menor vigor y capacidad de brotación.



Tratamientos con distintas letras difieren significativamente ($P < 0,05$) según la prueba de medias de Tukey (HSD). Las barras verticales representan el error Standard CV: 15,21.

FIGURA 1. Efecto del tratamiento de semilla con Teprosyn Zn[®] y ácido giberélico sobre el porcentaje de emergencia de plantas de caña.

Para prevenir tal inconveniente, la literatura especializada recomienda la selección y el uso de yemas provenientes del tercio superior que contienen un adecuado suministro de azúcares y nutrientes, constituyendo una semilla más valiosa para la siembra de la caña de azúcar (FONAIAP, 1985; Irvine, 2004; Miller y Gilbert, 2009). Es probable que este factor pueda explicar los altos coeficientes de variación obtenidos tanto en ésta como en las demás variables evaluadas, tal como se puede apreciar en las figuras anexas.

Sin embargo, resultados análogos indican que la inmersión de mini esquejes de 10 m de edad de la misma variedad de la caña en una solución de Teprosyn Zn® al 2%, aumentó la emergencia de brotes en un 15% sobre el testigo a los 15 DDS (Gabaüer, 2009).

El uso de Zn aumentó la germinación de yemas en un 50% en socas de la caña de azúcar en condiciones de bajas temperaturas (Rai *et al.*, 2008), lo cual se ha correlacionado positivamente con el contenido de triptófano y con la actividad del ácido indol acético en estos órganos vegetativos (Singh *et al.*, 2003).

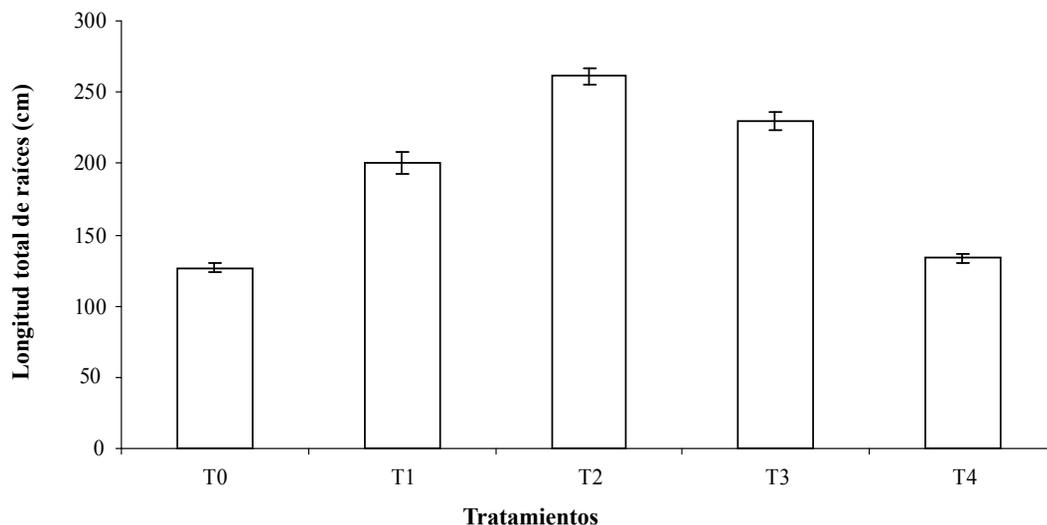
La Figura 1 señala que T4 no afectó el porcentaje de brotes emergidos, aunque otros autores demostraron que bajo condiciones invernales el uso de ÁG₃ promueve la

emergencia de socas de la caña de azúcar y las plántulas de arroz (Gonçalves-Martins y de Camargo, 1999; Chen *et al.*, 2005).

La Figura 2 indica que el tratamiento de semilla con Teprosyn Zn® arrojó diferencias significativas sobre la longitud total de raíces (LTR) con una mejor respuesta de la concentración de 2% (T2), sucedida de las dosis correspondientes a 3 y 1% (T3 y T1). El uso de 2 l de Teprosyn Zn® 100 l agua⁻¹ produjo una LTR de 261,33 cm, esto representa un aumento del 105,77% respecto del testigo, en el cual se cuantificaron 127 cm.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Gabaüer (2009), quien reporta que la inmersión de esquejes de la caña de 8 m en una solución de Teprosyn Zn® al 2% incrementó significativamente la LTR en un 19,4% sobre el testigo. La función del Zn como promotor de la elongación de raíces ha sido ampliamente documentada en cereales como maíz y arroz (Liu *et al.*, 1997; Akihiko *et al.*, 2006).

Paralelamente se aprecia que el ÁG₃ (T4) también influyó sobre la longitud radicular (Figura 2), lo cual es soportado por abundante evidencia científica que sugiere que esta fitohormona regula la elongación y el crecimiento de raíces en muchas especies de plantas (Inada y Shimmen, 2000; Inada *et al.*, 2000; Tanimoto, 2005).



Tratamientos con distintas letras difieren significativamente ($P < 0,05$) según la prueba de medias con la menor diferencia (LSD). Las barras verticales representan el error Standard. CV: 19,36.

FIGURA 2. Efecto del tratamiento de semilla con Teprosyn Zn® y ácido giberélico sobre la longitud total de raíces de plantas de caña.

En la Figura 3 se evidencia que no hubo diferencias entre tratamientos para el número de raíces en plantas de la caña. Sin embargo, se muestra una tendencia al aumento de esta variable con la menor concentración de Zn (T1) sobre los demás tratamientos. Se ha señalado que el uso de Zn promueve el aumento del número de raíces seminales y laterales en plántulas de tres distintos genotipos del maíz (Liu *et al.*, 1997), aunque en el arroz parece que el Zn tiene una mayor influencia sobre la longitud radicular que sobre el número de raíces (Akihiko *et al.*, 2006).

El tratamiento de semillas con Teprosyn Zn® o AG_3 no afectó la longitud promedio de raíces. No obstante, se evidencia una tendencia al incremento de esta variable por efecto de la aplicación de Zn en dosis de 2 y 3% (T2 y T3). Adicionalmente, el uso de AG_3 (T4) muestra una mejor respuesta en términos de valor absoluto sobre el resto de los tratamientos (Figura 4).

En la Figura 5 se señala que independientemente de la dosis, el tratamiento de semillas con Teprosyn Zn® afectó significativamente el peso seco de la parte aérea. No obstante, la concentración del 2% (T2) produjo la mejor respuesta logrando acumular 25,47 g comparado con 17 g obtenidos en el testigo, lo cual equivale a un incremento del 49,82%. Estos resultados concuerdan con los reportados por Gabaüer (2009), quien, con la misma dosis de Zn, obtuvo aumentos de 65,28% y 115,38% del peso seco aéreo en plantas de la caña provenientes de esquejes de 8 y 11 m, respectivamente.

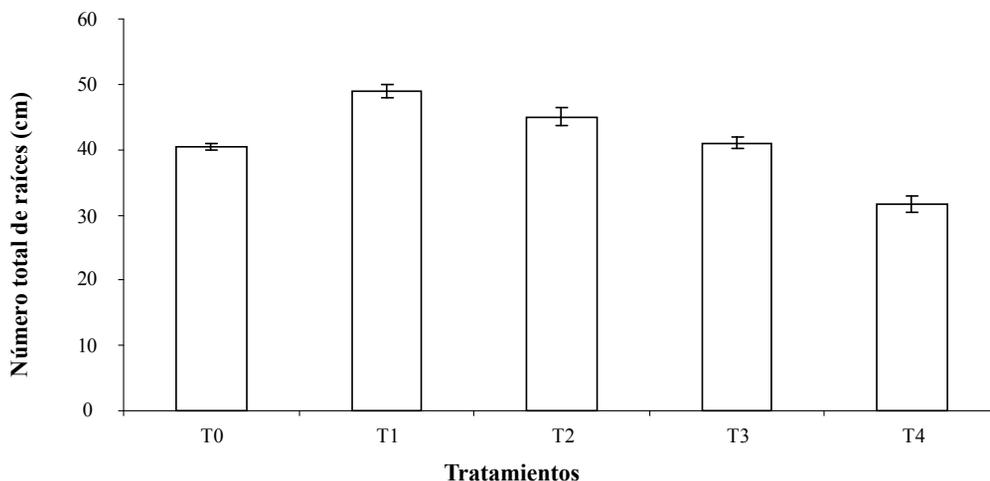
El tratamiento de semilla con Zn produjo un incremento significativo sobre el peso aéreo seco promedio en cereales y leguminosas (Harris *et al.*, 2008).

Por otro lado, se observa que no hubo respuesta a la aplicación de AG_3 (T4) sobre el peso aéreo seco de las plantas de caña (Figura 5).

El tratamiento de semilla de la caña con Zn o AG_3 , no tuvo influencias sobre la acumulación de MS en las raíces. Sin embargo se manifiesta cierta tendencia al aumento de dicha variable con el uso de Zn a las diluciones de 2 y 1% (Figura 6). Estos hallazgos difieren de los resultados obtenidos por Gabaüer (2009), quien logró aumentar el peso seco de raíces en 45,22% y 160,27% sobre el testigo, mediante la inmersión de esquejes de la caña de 8 y 11 m en soluciones de Teprosyn Zn® al 2%. La utilización de diferentes productos a base de Zn aumenta el crecimiento y el peso seco de raíces en plántulas de maíz y rúgula (Liu *et al.*, 1997; Ozdener y Aydin, 2009).

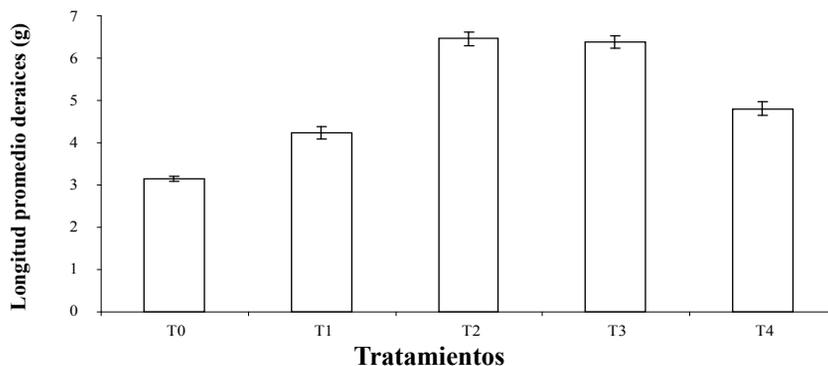
La inmersión de esquejes de la caña de azúcar en soluciones de Teprosyn Zn® al 2% (T2) afectó significativamente la producción de MS total en las plantas, obteniéndose un aumento del 51,82% sobre el testigo, al incrementar el peso seco total de 22 a 33,4 g (Figura 7).

Aunque el AG_3 (T4) no influyó sobre la producción de MS total en la caña, algunos reportes sugieren que su uso en inmersión aumenta sustancialmente el peso seco de plántulas de cultivos, como el arroz (Chen *et al.*, 2005).



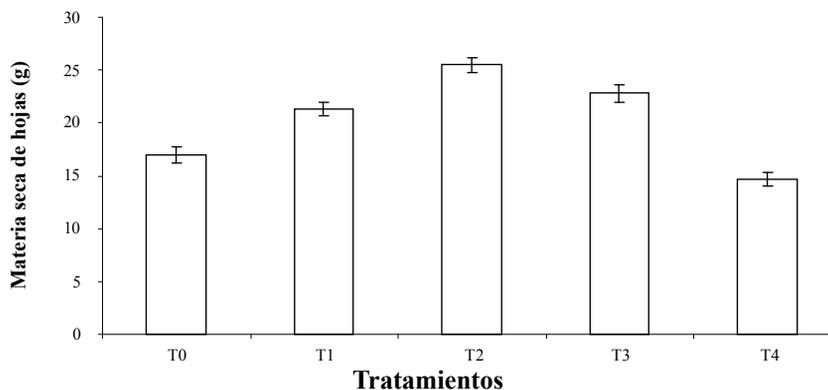
Tratamientos con distintas letras difieren significativamente ($P < 0,05$) según la prueba de medias con la menor diferencia (LSD). Las barras verticales representan el error Standard. CV: 27,85.

FIGURA 3. Efecto del tratamiento de semilla con Teprosyn Zn® y ácido giberélico sobre el número total de raíces de plantas de caña.



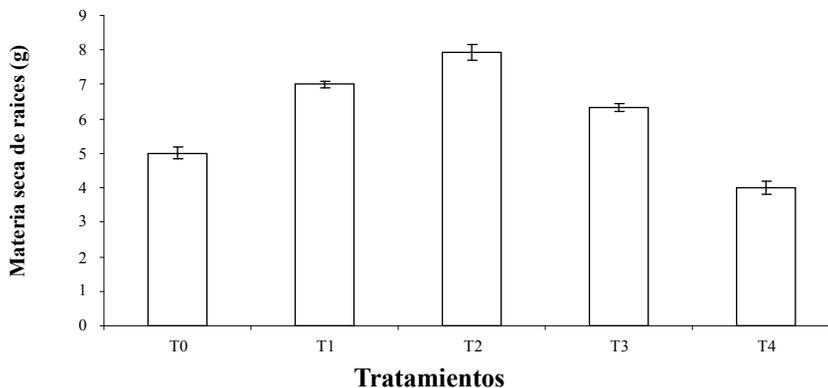
Tratamientos con distintas letras difieren significativamente ($P < 0,05$) según la prueba de medias con la menor diferencia (LSD). Las barras verticales representan el error Standard. CV: 36,60.

FIGURA 4. Efecto del tratamiento de semilla con Teprosyn Zn[®] y ácido giberélico sobre la longitud promedio de raíces de plantas de caña.



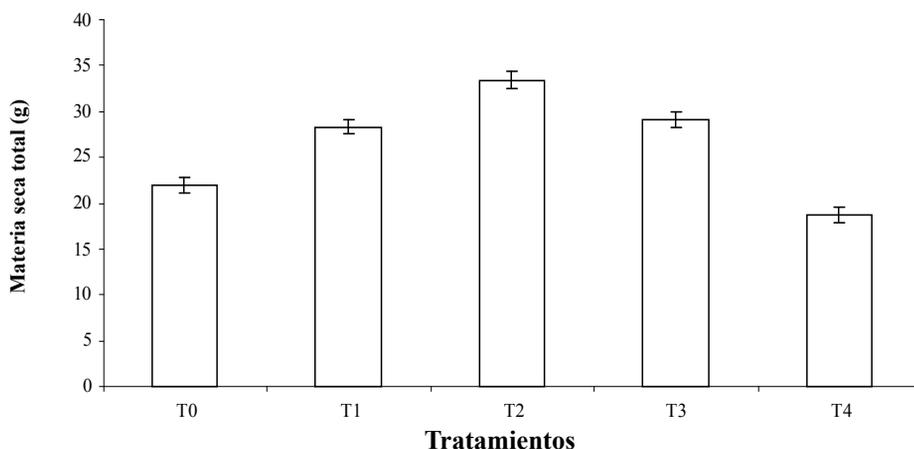
Tratamientos con distintas letras difieren significativamente ($P < 0,05$) según la prueba de medias con la menor diferencia (LSD). Las barras verticales representan el error Standard. CV: 22,81.

FIGURA 5. Efecto del tratamiento de semilla con Teprosyn Zn[®] y ácido giberélico sobre la acumulación de materia seca en hojas de plantas de caña.



Tratamientos con distintas letras difieren significativamente ($P < 0,05$) según la prueba de medias con la menor diferencia (LSD). Las barras verticales representan el error Standard. CV: 43,49.

FIGURA 6. Efecto del tratamiento de semilla con Teprosyn Zn[®] y ácido giberélico sobre la acumulación de materia seca en raíces de plantas de caña.



Tratamientos con distintas letras difieren significativamente ($P < 0,05$) según la prueba de medias con la menor diferencia (LSD). Las barras verticales representan el error Standard. CV: 24,61.

FIGURA 7. Efecto del tratamiento de semilla con Teprosyn Zn[®] y ácido giberélico sobre la acumulación de materia seca total en plantas de caña.

CONCLUSIONES

- El tratamiento de semilla con una suspensión concentrada a base de Zn (Teprosyn Zn[®]) al 3%, promovió la brotación y emergencia de mini esquejes de la caña de azúcar var. CP 742005.
- La inmersión de esquejes de la caña de azúcar en una solución de Teprosyn Zn[®] al 2% de concentración incrementó significativamente la longitud total de raíces, el peso aéreo seco y la producción de MS total de plantas de caña, favoreciendo el establecimiento del cultivo.
- La utilización de ÁG₃ en su dosis única (9,2 mg ÁG₃ l⁻¹) sólo afectó la longitud total de raíces bajo las condiciones del presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

Akihiko, I., U. Kana, S. Yuichi, N. Yoshitaka and A. Shoichiro. 2006. Effect of zinc and auxin on the formation of adventitious roots and its growth in rice plant. Bulletin of the Faculty of Agriculture, University of Miyazaki. 52(1-2):57-64.

Alloway, B. J. 2008. Zinc in soils and crop nutrition. 2nd Ed. International Zinc Association (IZA) and International Fertilizer Industry Association (IFA). Brussels, Belgium and Paris, France. 135 p.

Alloway, B. J. 2009. Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. Environ Geochem Health 31(5):537-548.

Anderson, D. L. y J. E. Bowen. 2000. Nutrición de la caña de azúcar. Instituto de la potasa y el fósforo (INPOFOS). Casilla postal 17-17-980. Quito, Ecuador. 40 p.

Ashraf, M. and M. R. Foolad. 2005. Pre-sowing seed treatment-a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. Adv Agron 88:223-271.

Cakmak, I., H. Marschner and F. Bangerth. 1989. Effect of zinc nutritional status on growth, protein metabolism and levels of indole-3-acetic acid and other phytohormones in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Exp. Bot. 40(3):405-412.

Cakmak, I., I. Tolay, A. Ozdemir, H. Ozkan, L. Ozturk and C. I. Kling. 1999. Differences in zinc efficiency among and within diploid, tetraploid and hexaploid wheats. Ann. Bot. 84:163-171.

Campanoni, P. and P. Nick. 2005. Auxin-dependent cell division and cell elongation. 1-naphthaleneacetic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid activate different pathways. Plant Physiol 137(3):939-948.

Chao, W. S., M. E. Foley, D. P. Horvath and J. V. Anderson. 2007. Signals regulating dormancy in vegetative buds. Int. J. Plant Devel. Biol. 1(1):49-56.

- Chen, D., T. A. Gunawardena, B. P. Naidu, S. Fukai and J. Basnayake. 2005. Seed treatment with gibberellic acid and glycinebetaine improves seedling emergence and seedling vigour of rice under low temperature. *Seed Sci. Technol.* 33(2):471-479.
- Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 1985. El cultivo de la caña de azúcar. FONAIAP, Yaritagua, Venezuela. 226 p.
- Gebaüer L., J. M. 2009. Efecto de la aplicación de Teprosyn Zn® sobre la germinación y enraizamiento de esquejes de la caña de azúcar (*Saccharum* sp.) en el proceso de la producción de plántulas de la Agropecuaria El Retorno, C. A. en el municipio Esteller, estado Portuguesa. Tesis de grado para optar al título de Ing. Agr°. Tarabana, estado Lara. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado. Decanato de Agronomía, núcleo "Héctor Ochoa Zuleta". 53 p.
- Gonçalves-Martins, M. B. e P. R. de Camargo e Castro. 1999. Efeitos de giberelina e ethephon na anatomia de plantas de cana-de-açucar. *Pesq. Agropec. Bras.* 34(10):1 855-1 863.
- Graham, R. D., J. S. Ascher and S. C. Hynes. 1992. Selecting zinc-efficient cereal genotypes for soils of low zinc status. *Plant and Soil* 146:241-250.
- Grewal, H. S. and R. D. Graham. 1997. Seed zinc content influences early vegetative growth and zinc uptake in oilseed rape (*Brassica juncea*) genotypes on zinc-deficient soil. *Plant and Soil* 192:191-197.
- Grewal, H. S., L. Zhonggu and R. D. Graham. 1997. Influence of subsoil zinc on dry matter production, seed yield and distribution of zinc in oilseed rape genotypes differing in zinc efficiency. *Plant and Soil* 192:181-189.
- Harris, D., A. Rashid, G. Miraj, M. Arif and M. Yunas. 2008. 'On-farm' seed priming with zinc in chickpea and wheat in Pakistan. *Plant and Soil* 306:3-10.
- Inada, S. and T. Shimmen. 2000. Regulation of elongation growth by gibberellin in root segments of *Lemna minor*. *Plant Cell Physiol.* 41(8):932-939.
- Inada, S., M. Tominaga and T. Shimmen. 2000. Regulation of root growth by gibberellin in *Lemna minor*. *Plant Cell Physiol.* 41(6):657-665.
- Irvine, J. E. 2004. Sugarcane agronomy. In: Glyn James (ed.) *Sugarcane*. 2nd Ed. Blackwell Publishing, Oxford. UK. 143-159 pp.
- Kirkby, E. A. and V. Römheld. 2007. Micronutrients in plant physiology: functions, uptake and mobility. *Proceedings 543*. The International Fertilizer Society, York, United Kingdom. 1-51 pp.
- Leyser, O. 1999. Plant hormones: ins and outs of auxin transport. *Current Biology* 9:8-10.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. Academic Press, New York.
- Miller, J. D. and R. A. Gilbert. 2009. Sugarcane botany: A brief view. Document SS-AGR-234. University of Florida. IFAS Extension: 1-6.
- Mutasa-Göttgens, E. and P. Hedden. 2009. Gibberellin as a factor in floral regulatory networks. *J. Exp. Bot.* 60(5):1 523-1 532.
- Ozdener, Y. and B. K. Aydin. 2009. The effect of zinc on the growth and physiological and biochemical parameters in seedlings of *Eruca sativa* (L.) (Rocket). *Acta Physiol. Plant.* 32(3):469-476.
- Rai, R. K., P. Singh, A. K. Shrivastava and A. Suman. 2008. Modulation of low-temperature-induced biochemical changes in bud and root band zone of sugar cane sets by potassium, zinc, and ethrel for improving sprouting. *J. Agric. Food Chem.* 56(24):11 976-11 982.
- Rengel, M., F. Gil y J. Montaña. 2010. Acumulación y distribución de micronutrientes en el cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). En revisión para publicación en la revista Bioagro-UCLA.
- Rengel, Z. and R. D. Graham. 1995. Importance of seed content for wheat growth on Zn-deficient soil. I. Vegetative growth. *Plant and Soil* 173:259-266.
- Richards, D. E., K. E. King, T. Ait-ali and N. P. Harberd. 2001. How gibberellin regulates plant growth and development: a molecular genetic analysis of gibberellin signaling. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52:67-88.
- Rico, M. I., J. M. Álvarez and J. Novillo. 1995. Mobility and extractability of zinc in soil columns amended with micronutrient formulations. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 26 (17 and 18):2 843-2 855.

- Singh, B., S. K. Natesan, B. K. Singh and K. Usha. 2005. Improving zinc efficiency of cereals under zinc deficiency. *Current Science* 88(1):36-44.
- Singh, I., R. K. Rai, S. Solomon and A. K. Shrivastava. 2003. Role of indole-3-acetic acid in sprouting of subterranean buds in winter initiated sugarcane ratoon. *Sugar Tech.* 5(3):181-183.
- Sun, T. and F. Gubler. 2004. Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. *Ann. Rev. Plant Biol.* 55:197-223.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. *Plant physiology*. 3rd ed. Sinauer Associates Inc. Sunderland, MA. U.S.A. 881-942 pp.
- Takkar, P. N. and C. D. Walker. 1993. The distribution and correction of zinc deficiency. **In:** A. D. Robson (ed.) *zinc in soils and plants*. Kluwer Academic Publ., Dordrecht. The Netherlands. 151-166 pp.
- Tanimoto, E. 2005. Regulation of root growth by plant hormones-roles for auxin and gibberellin. *Crit. Rev. Plant Sci.* 24(4):249-265.
- Yilmaz, A., H. Ekiz, B. Torun, I. Gultekin, S. Karanlik, S. A. Bagci and I. Cakmak. 1997. Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat cultivars grown on zinc-deficient calcareous soils. *J. Plant Nutr.* 20(4-5):461-471.

EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA Y RADIACIÓN EN MAÍZ, GIRASOL Y SOJA, EN LA REGIÓN ORIENTAL DE LA PAMPA, ARGENTINA

EFFICIENCY OF WATER AND RADIATION USE IN MAIZE, SUNFLOWER AND SOYBEAN, IN THE ORIENTAL REGION OF LA PAMPA, ARGENTINA

María L. Faraldo*, Graciela T. Vergara*, Guillermo A. Casagrande**,
Juan P. Arnaiz*, Hugo Mirasson* y Carlos Ferrero*.

*Profesores(as). Universidad Nacional de La Pampa (UNLPam). Facultad de Agronomía. La Pampa, Argentina.

**Investigador. Estación Experimental Agropecuaria Anguil INTA "Ing. Agr. Guillermo Covas". La Pampa, Argentina
Correo electrónico: mfaraldo@agro.unlpam.edu.ar

RESUMEN

La eficiencia en el uso del agua (EUA) o de la radiación (EUR) se puede representar por la cantidad de materia seca por unidad del recurso captado. La mayor productividad de un cultivo puede lograrse por aumento en la captura de recursos, y/o en la eficiencia de su uso. El trabajo consistió en estudiar la EUA y la EUR en tres cultivos de verano (maíz, girasol y soja). Los ensayos se realizaron en Catrilo, La Pampa, Argentina, en el período 2005/2010. Analizadas cinco campañas, el maíz, *Zea mays*, se presentó como el cultivo más eficiente en el uso del agua y la radiación solar (RS). Sin embargo, cuando se presentan condiciones de sequía el girasol, *Helianthus annuus*, resulta ser el cultivo más eficiente en el uso de ambos recursos. La soja, *Glycine max*, en todos los grupos de madurez (GM) analizados no resultó ser eficiente en el uso del agua en comparación a los otros cultivos. Desde el punto de vista energético, el maíz fue el que mayor cantidad de fotoasimilados produjo para lograr los rendimientos de cada campaña, seguido del girasol. Se concluye que para el período estudiado, ambos cultivos se diferencian positivamente de la soja, pudiéndose aseverar que son los de mejor comportamiento en la región semiárida pampeana.

Palabras Clave: *Zea mays*; *Helianthus annuus*; *Glycine max*; eficiencia; agua; radiación.

SUMMARY

Efficiency in the water (WUE) or radiation (RUE) can be represented by the amount of dry matter per unit of resource captured. Higher productivity of a crop can be achieved by increasing resource capture and/or bigger efficiency in its use. The work consisted on the study the WUE and the RUE in three summer crops (maize, sunflower and soybeans). Assays were performed in Catrilo, La Pampa, Argentina, in 2005/2010 period. Five campaigns were analyzed resulting maize, *Zea mays*, as the most efficient crop in water and radiation solar use. However, when drought conditions occur, sunflower, *Helianthus annuus*, became the more efficient crop for the use of both resources. The soybean, *Glycine max*, in all analyzed maturity groups (MG) did not reach the WUE achieved by corn and sunflower. From the energy perspective, corn was the crop that produced the greatest amount of photoassimilates to achieve the performance of each campaign, followed by sunflower. It was concluded that for studied period, both crops differ positively from soybeans, thus we can to assert that they are the best performing in the semi-arid pampas.

Key Words: *Zea may*; *Helianthus annu*; *Glicine max*; efficiency; water; radiation.

INTRODUCCIÓN

El maíz, *Zea mays*, la soja o soya, *Glicine max* y el girasol, *Helianthus annuus*, son las especies de ciclos estivales más cultivadas en la zona semiárida de la región central de la República Argentina, resultando ser las alternativas más versátiles a la hora de definir superficies agro-ganaderas en esta zona de gran variabilidad agroecológica, tanto desde el punto de vista climático como edáfico. A la empresa agropecuaria le resulta imprescindible ser eficiente en la utilización de los insumos, buscando el mayor retorno económico de su inversión.

Las restricciones que impone el ambiente afectan el crecimiento, el desarrollo y el rendimiento de las plantas (Muchow y Davies, 1988; Uhart y Andrade, 1995). Buenas condiciones climáticas y edáficas, tanto estructurales como nutricionales, aseguran un buen crecimiento foliar, permiten al cultivo alcanzar y mantener una buena captación de radiación solar (RS) y una alta eficiencia de conversión de la radiación interceptada en biomasa. Estas condiciones posibilitan lograr un óptimo estado fisiológico de los cultivos durante el período crítico de determinación de los rendimientos (Novoa y Loomis, 1981; Andrade *et al.*, 1996). Si no se cumple esta condición óptima durante este período, se reduce el número de granos fijados por el cultivo, y por ende el rendimiento (Aluko y Fischer, 1987; Cirilo y Andrade, 1994; Uhart y Andrade, 1995).

En los sistemas productivos es prioritario maximizar la respuesta de los rendimientos, para obtener el máximo beneficio por el uso eficiente de los recursos. El ambiente en el cual se desarrollan los cultivos desde la siembra a la cosecha no es uniforme, sino que presenta una enorme variación espacial y temporal (Castellarín *et al.*, 2005); haciendo variar su capacidad para capturar y utilizar recursos dependiendo de los procesos fenológicos que ocurran en los cultivos a cada momento (Slafer y Andrade, 2003).

Earl y Davis (2003) concluyeron que el déficit de agua reduce el rendimiento mediante la disminución de la interceptación de la RS, debido a una menor área foliar ocasionada por la senescencia temprana. Las mayores disminuciones en el rendimiento se producen cuando el déficit hídrico ocurre alrededor de la floración del maíz o del girasol. En contraposición, la soja es más afectada en etapas reproductivas más avanzadas, debido a su hábito de crecimiento indeterminado que provoca un alargamiento del período de producción de flores (Board *et al.*, 1995; Jiang y Egli, 1995).

La eficiencia en el uso del agua (EUA) varía entre especies (tipo de metabolismo y composición de biomasa) y entre climas, dado que estos condicionan la demanda atmosférica. Por su metabolismo C4 y bajo contenido energético de su biomasa reproductiva, el maíz es más eficiente que el girasol y la soja. En cambio, el girasol tiene un producto con alta concentración de aceite en el grano, por lo que tiene menor tasa de crecimiento por unidad de agua (Andrade y Gardiol, 1994). La soja presenta baja eficiencia fotosintética y alto contenido energético del grano.

La EUA calculada como cociente entre el rendimiento en grano y la evapotranspiración de referencia es casi el doble para el maíz que para la soja y el girasol (Andrade, 1995). Según Hattendorf *et al.* (1988) existe un amplio rango de EUA que varía entre 10 y 24 kg ha⁻¹ mm⁻¹ para maíz, de 5 a 9 kg ha⁻¹ mm⁻¹ para girasol y de 5 a 11 kg ha⁻¹ mm⁻¹ para la soja.

En las primeras etapas del ciclo del cultivo, el girasol supera al maíz y la soja en la interceptación de la RS, debido a la disposición de las hojas en el canopeo y a la tasa de expansión de las mismas. Sin embargo, el maíz mantiene una máxima cobertura hasta la madurez fisiológica, mientras que el girasol decae marcadamente durante el período de llenado de los granos, por la pérdida de la capacidad fotosintética ocasionada por la senescencia foliar. En la soja ocurre una situación intermedia porque presenta senescencia foliar inducida por los frutos (Sinclair y de Wit, 1975). Numerosos estudios han demostrado una relación lineal entre la biomasa producida y la RS absorbida durante el ciclo de cultivo en estas especies; en el maíz Tollenar y Bruulsema (1988) y Andrade *et al.* (1993), en girasol Trapani *et al.* (1992) y en soja Vega *et al.* (2000).

Para obtener altos rendimientos y altas tasas de crecimiento, un cultivo debe mantener una interceptación del 95% de la RS incidente durante este período. La eficiencia con que se convierte la RS interceptada en biomasa varía según el cultivo. Para el maíz, la eficiencia en el uso de la radiación (EUR) sería cercana a 4 g de materia seca por cada Megajoule (MJ) de RS fotosintéticamente activa interceptada (Otegui *et al.*, 1995). Esta eficiencia es alta en maíz, baja en soja e intermedia en girasol, debido a la composición de los granos (Sinclair y Muchow, 1999; Vega *et al.*, 2000).

Para poder efectuar una comparación de EUA y EUR entre cultivos, que resulte equitativa desde el punto de vista de los requerimientos energéticos que presenta cada

especie, resulta importante transformar el producto de cada uno de ellos en sus equivalentes de glucosa y en los valores de energía generada, y su expresión en las kilocalorías correspondientes. Así se determinó que producir 1 g de girasol es más costoso energéticamente que igual cantidad de maíz y soja, y que, a su vez, este produce un grano de mayor contenido energético (Sinclair y de Wit, 1975),

El objetivo de este trabajo fue realizar un análisis comparativo, desde el punto de vista energético, de la EUA y EUR en los cultivos: maíz, girasol y soja, en la región agropecuaria oriental de la Provincia de La Pampa, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos se sembraron en Catrilo, La Pampa, con latitud: 36° 26' S y Longitud: 63° 24' W; bajo siembra directa sobre un suelo Haplustol éntico desarrollado sobre materiales loessicos, con una secuencia de horizontes A-AC-C₁-C_{2k}, durante las campañas 2005/06, 2006/07, 2007/08, 2008/09 y 2009/10 en densidades de siembra recomendadas para cada cultivo y en fechas de siembra normales, condicionadas a la disponibilidad de agua en el suelo.

El área en estudio posee un clima templado. La temperatura del aire registró fluctuaciones que definen distintas estaciones. Existen dos épocas bien diferenciadas: el verano, caracterizado por el valor medio del mes más cálido (enero), y el invierno por el valor medio del mes más frío (julio). Para el análisis de los elementos del clima se usó la serie de registro 1977/2004, determinándose que la temperatura media del mes de enero fue de 23,1 °C y la del mes de julio de 7,7 °C. Se registraron temperaturas máximas absolutas de 40,7 °C y mínimas absolutas de -11,0 °C. La humedad relativa del aire de la zona en estudio posee un valor medio anual de 71%, con una humedad máxima absoluta de 100% y una mínima absoluta de 5%.

La precipitación media anual fue de 863,4 mm, con una distribución estacional de: 35,9% en verano (diciembre-enero-febrero), 27,5% en otoño (marzo-abril-mayo), 8,8% en invierno (junio-julio-agosto) y 27,8% en primavera (septiembre-octubre-noviembre) (Casagrande *et al.*, 2011). El período medio libre de heladas es de 182 d, extendiéndose desde el 20 de abril hasta el 10 de octubre, con una variabilidad de +/- 21 d (Vergara y Casagrande, 2002). Los vientos predominantes son del NNE y SSO, siendo

su velocidad media anual de 11 km h⁻¹, con la época de mayor intensidad a la salida del invierno y comienzo de primavera (Mirasson *et al.*, 2010). Los datos meteorológicos referidos a las precipitaciones y la RS global se obtuvieron de una estación DAVIS modelo Vantage PRO instalada en el lote de los ensayos.

Se realizaron estudios comparativos de rendimiento con tres repeticiones, analizando tres híbridos de maíz, girasol y variedades de soja, de cada uno de los grupos de madurez (GM) III, IV y V, que registraron cada año el mayor rendimiento de grano. Los tratamientos se sembraron en parcelas de siete surcos por 100 m de longitud, con cuatro repeticiones dispuestas al azar. Se aplicó una fertilización de base en el momento de la siembra, con 40 kg ha⁻¹ de fosfato diamónico, grado técnico 18-46-0, además, se efectuó un control de malezas (específico para cada cultivo) y de plagas, según los métodos usuales en la zona.

El agua útil a la siembra (AUS) y el agua remanente a la cosecha de los cultivos se determinaron tomando por cada cultivo, 4 muestras con barreno hasta los 2 m de profundidad por método gravimétrico, utilizando la fórmula:

$$\% H = PH - PS / PS * 100$$

Donde: %H: porcentaje de humedad; PH: peso húmedo; PS: peso seco.

En la madurez fisiológica se realizaron cuatro muestreos (de 10 m² cada uno) por cada híbrido o variedad, con la finalidad de determinar los rendimientos. La EUA fue calculada como la relación entre el rendimiento y los milímetros de agua disponible para el cultivo, computados como el AUS más las precipitaciones ocurridas en el ciclo, y restando el agua remanente a cosecha. La EUR se calculó como el cociente entre el rendimiento y la RS incidente, medida durante el ciclo de los cultivos.

Para el cálculo de los requerimientos de fotoasimilados para cada grano (Cuadro 1), así como, la capacidad para generar energía de cada uno, se tuvo en cuenta que con 1 g de glucosa se sintetizan 0,83 g de carbohidratos, 0,33 g de aceite y 0,41 g de proteína, y que a su vez cada gramo de carbohidratos, proteína y aceite genera 4, 5 y 9 kcal, respectivamente (Penning de Vries *et al.*, 1974; Eckhoff y Paulsen, 1996; Pasarella y Savin, 2003).

CUADRO 1. Composición química media y valor energético medio de los granos, y requerimiento de fotoasimilados para producirlos.

Cultivo	Proteína (%)	Hidratos de carbono (%)	Materia grasa (%)	Requerimiento fotoasimilados (g g ⁻¹)	Calorías (kcal g ⁻¹)
Soja	40	30	20	1,96	4,8
Girasol	18	18	48	2,11	5,85
Maíz	10	70	4,8	1,23	3,68

Fuente: Pasarella y Savin, 2003

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El clima es uno de los factores importantes para la producción agrícola, dado que la mayoría de la superficie sembrada se hace bajo condiciones de secano. Por consiguiente, la producción está relacionada significativamente con la distribución y cantidad de precipitación ocurrida. Las fluctuaciones, tanto en cantidad como en distribución, originan periodos con deficiencias hídricas, los cuales pueden ser atenuados parcial o totalmente por la reserva hídrica del suelo.

En todas las campañas, las precipitaciones durante el ciclo de los cultivos fueron inferiores al promedio, y su distribución mostró alta variabilidad, excepto la última campaña, donde los registros pluviométricos fueron superiores (ver Figura y Cuadro 2).

Con los valores de rendimiento físico, agua consumida en el ciclo de los cultivos y cantidad de radiación recibida, se calcularon las EUA y EUR para las tres especies (Cuadro 3). Así mismo, se observa que el maíz presentó mayor EUA (Cuadros 6 y 7) y EUR (Cuadros 8 y 9) que el girasol y la soja, lo cual resulta pertinente por su condición de planta C4 y su bajo contenido energético, en concordancia con lo postulado por Andrade y Gardiol (1994).

Sin embargo, en la campaña más seca (2008/09), el girasol fue más eficiente en el uso de ambos recursos. Este comportamiento diferencial del girasol frente a la sequía, le permite generar un buen rendimiento con el almacenaje de agua en los estados fenológicos tempranos (octubre) sumados a las lluvias de importante magnitud en el período crítico (diciembre) debido a su ciclo más corto (Cuadros 4 y 5).

En los tres cultivos coincidieron temporalmente las menores EUA con las menores EUR, concordando con lo expresado por Earl y Davies (2003). Considerando los cinco GM de la soja, los que presentaron mayor EUA son los GM III L y IV C. Analizando los valores promedios de la EUR, los de girasol fueron 33% y los de soja 60% menores con respecto al valor medio del maíz.

El efecto de la distribución de las lluvias durante el ciclo de los cultivos resultó más importante que el agua total precipitada. Se observó que en las campañas 2005/06, 2007/08 y 2008/09 las precipitaciones no solo fueron menores a la media histórica, sino que además su distribución decádica no se ajustó al período crítico de definición de los rendimientos de cada cultivo (Cuadro 2).

Con los valores de los requerimientos medios de fotoasimilados (Cuadro 1) y los correspondientes al rendimiento físico (Cuadro 3), se calcularon los requerimientos de fotoasimilados para cada especie.

El maíz fue el cultivo que mayor cantidad de fotoasimilados sintetizó por unidad de superficie, para generar los rendimientos en cada campaña (Cuadro 4). Esta misma tendencia se observó cuando se transforma el rendimiento de grano en su capacidad de generar calorías (Cuadro 5).

En ambos casos, las variaciones observadas entre campañas responden a la variabilidad registrada en las lluvias. El girasol, en los resultados de la campaña 2008/09, mostró su capacidad de respuesta frente a situaciones de estrés hídrico, donde la cantidad de fotoasimilados fijados y su rendimiento calórico, superaron al maíz y a la soja en todos sus GM.

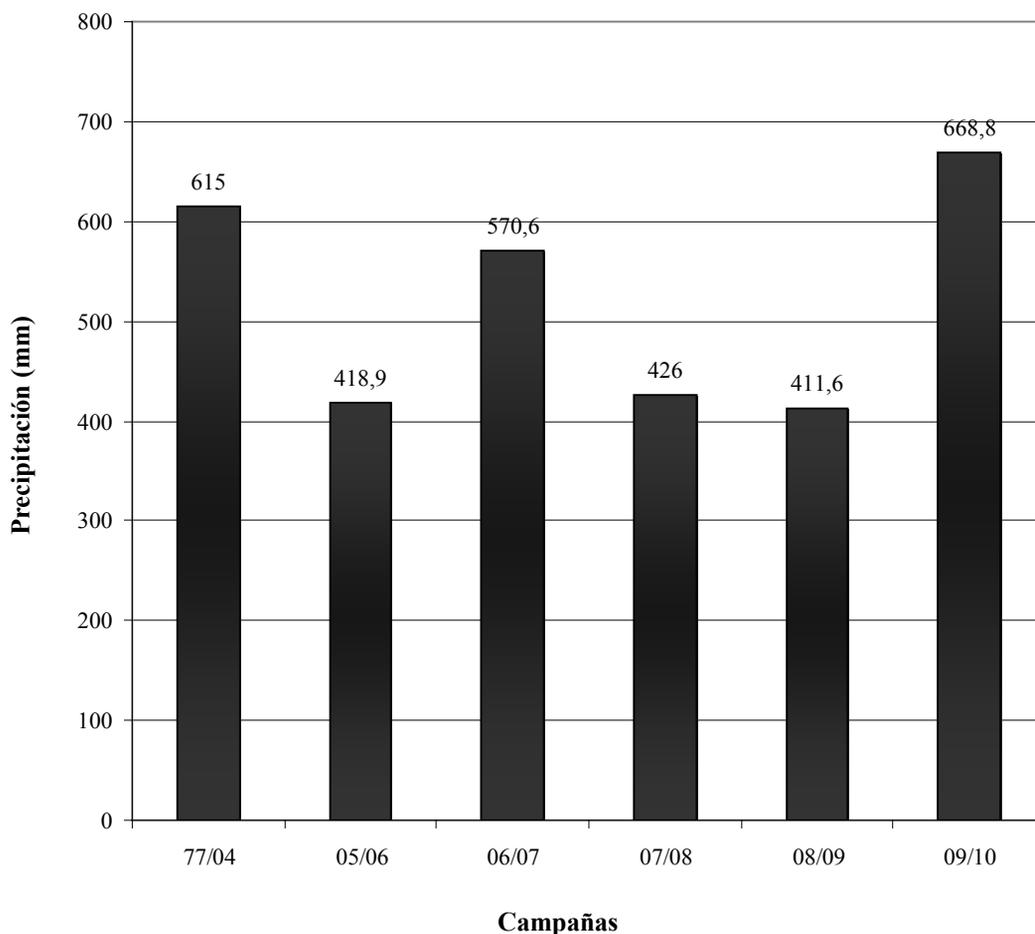


FIGURA. Precipitaciones (mm) de cada campaña durante el ciclo de los cultivos respecto de la serie histórica 1977/2004.

CUADRO 2. Distribución decádica de las precipitaciones (mm) por campaña y de la serie 1977/2004.

Campañas	Octubre			Noviembre			Diciembre			Enero			Febrero			Marzo		
	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
1977/2004	30,0	24,7	35,0	42,2	32,3	21,8	44,1	31,1	41,7	32,1	42,1	30,1	32,8	28,7	27,0	40,9	44,0	9,2
2005/06	47,0	0,0	16,0	0,0	35,0	9,5	2,0	0,0	13,0	30,5	16,0	27,0	34,0	0,0	52,0	62,0	64,0	0,0
2006/07	36,0	53,0	55,0	47,0	0,0	15,0	35,0	28,0	33,0	19,0	0,0	19,0	3,0	46,0	29,0	49,0	23,0	86,0
2007/08	55,0	0,0	24,0	28,0	0,0	41,0	11,0	33,0	0,0	20,0	0,0	06,0	30,0	28,0	5,0	0,0	0,0	44,0
2008/09	16,0	51,0	32,0	7,0	0,0	31,0	18,0	100,0	5,0	0,0	0,0	0,0	17,0	14,0	9,0	74,5	0,0	6,0
2009/2010	3,0	19,0	0,0	20,0	25,0	48,0	6,0	25,4	46,2	4,8	56,2	7,4	48,6	134,6	25,4	113,2	68,3	12,7

CUADRO 3. Rendimiento de grano, agua consumida y radiación absorbida en el ciclo de los cultivos.

Campaña agrícola	Rendimiento (kg ha ⁻¹)*	Agua consumida (mm)	Radiación (MJ m ⁻²)
2005/06	3 298	301	3 103
2006/07	4 577	414	3 090
2007/08	2 790	424	3 033
2008/09	3 999	223	2 800
2009/10	2 580	256	2 257
Promedio	3 449	324	2 857
2005/06	8 895	456	3 670
2006/07	9 633	547	3 606
2007/08	6 271	458	3 572
2008/09	3 302	458	3 572
2009/10	1 0279	555	3 165
Promedio	7 676	495	3 517
2005/06	903	381	2 997
2006/07	1 476	374	2 925
2007/08	2 641	378	3 143
2008/09	1 573	385	3 524
2009/10	3 369	522	2 477
Promedio	1 992	408	3 013
2005/06	1 428	411	2 830
2006/07	1 532	506	3 504
2007/08	2 951	378	2 647
2008/09	1 918	368	2 769
2009/10	3 565	522	2 477
Promedio	2 279	437	2 845
2005/06	1 439	411	2 958
2006/07	1 400	428	3 191
2007/08	2 801	378	2 720

... continúa

.../... continuación CUADRO 3

Campaña agrícola	Rendimiento (kg ha ⁻¹)*	Agua consumida (mm)	Radiación (MJ m ⁻²)
2008/09	1 735	384	3 348
2009/10	3 938	522	2 477
Promedio	2 263	425	2 939
2005/06	1 632	411	2 976
2006/07	1 374	455	3 230
2007/08	2 913	378	2 809
2008/09	1 859	368	2 870
2009/10	4 404	522	2 477
Promedio	2 436	427	2 872
2006/07	1 700	506	3 491
2007/08	1 433	378	3 070
2008/09	1 079	382	3 141
2009/10	3 972	522	2 477
Promedio	2 046	443	3 010

*Datos promedios referenciales de los tres mejores cultivares de cada campaña de los ECR con tres réplicas.

En los Cuadros 6 y 7 se muestra la EUA, en función de los fotoasimilados fijados por milímetro de agua consumida por cada uno de los cultivos y sus equivalentes energéticos. En ellos se observa un comportamiento similar entre el maíz y el girasol, destacándose este último en la campaña 2008/09, donde los valores alcanzados superan ampliamente a los correspondientes al maíz y la soja.

El análisis de los años estudiados coloca al maíz como el cultivo de mayor EUR, tanto en la acumulación de fotoasimilados en los granos, como en sus equivalentes energéticos por cada MJ recibido (Cuadros 8 y 9).

El girasol se comportó de manera intermedia y los valores menores, en general, corresponden a la soja en sus distintos GM; concordando con Otegui *et al.* (1995). No obstante, al igual que para las otras variables, el girasol se destacó en la campaña más seca (2008/2009). Se debe prestar especial atención a la campaña 2009/10, la cual presentó buena disponibilidad hídrica en general, permitiendo al maíz y la soja (GM IV L y VC) expresar una mayor EUR.

CUADRO 4. Rendimiento de los cultivos expresado en cantidad de fotoasimilados en cada campaña.

Cultivo	Campaña Agrícola				
	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10
	Fotoasimilados (g m ⁻²)				
Girasol	695 b	965 b	588 b	843 a	544 e
Maíz	1094a	1 184 a	771 a	406 b	1264 a
Soja IIIC	171d	280 c	501 d	298 c	640 d
Soja IIIL	271 c	291 c	560 bc	364 bc	677 cd
Soja IVC	273 c	266 c	532 cd	329 bc	748 bc
Soja IVL	310 c	261 c	553 bcd	353 bc	836 b
Soja VC		322 c	272 e	205 d	754 bc
Valor de p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV	19,51	26,8	12,62	25,18	14,41

Letras distintas indican diferencias significativas Test LSD Fisher (P≤0,05)

CUADRO 5. Equivalente en kcal/m² del rendimiento de los cultivos en las campañas 2005/2012.

Cultivo	Campaña Agrícola				
	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10
	(kcal m ⁻²)				
Girasol	1 929 b	2 677 b	1 632 b	2 339 a	1 509 d
Maíz	3 273 a	3 544 a	2 307 a	1 215 b	3 782 a
Soja IIIC	433 d	708 c	1 267 d	755 cd	1 617 d
Soja IIIL	685 c	735 c	1 416 c	920 c	1 710 cd
Soja IVC	690 c	671 c	1 344 cd	832 c	1 890 bc
Soja IVL	783 c	659 c	1 398 cd	892 c	2 114 b
Soja VC		815 c	687 e	517 d	1 906 bc
Valor de p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV	19,81	27,49	12,56	25,87	14,13

Letras distintas indican diferencias significativas Test LSD Fisher (P≤0,05)

CUADRO 6. Eficiencia del uso del agua (EUA) expresada en gramos de fotoasimilados por milímetro de agua consumida en cada campaña

Cultivo	Campaña Agrícola				
	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10
EUA (g fotoas mm ⁻¹)					
Girasol	2,31 a	2,33 a	1,39 b	3,78 a	2,13 a
Maíz	2,40 a	2,17 a	1,68 a	0,89 b	2,28 a
Soja IIIC	0,45 c	0,75 b	1,33 b	0,78 bc	1,23 c
Soja IIIL	0,66 bc	0,58 b	1,48 b	0,99 b	1,3 c
Soja IVC	0,67 bc	0,62 b	1,41 b	0,86 bc	1,43 bc
Soja IVL	0,75 b	0,57 b	1,46 b	0,96 b	1,6 b
Soja VC		0,64 b	0,72 c	0,54 c	1,45 bc
Valor de p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV	19,7	26,73	12,73	27,85	14,6

Letras distintas indican diferencias significativas Test LSD Fisher ($P \leq 0,05$).

CUADRO 7. Eficiencia de uso del agua (EUA) expresada en kilocalorías por milímetro de agua consumida por los cultivos en cada campaña.

Cultivo	Campaña Agrícola				
	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10
EUA (kcal mm ⁻¹)					
Girasol	6,41 b	6,47 a	3,85 b	10,47 a	5,90 b
Maíz	7,18 a	6,48 a	5,04 a	2,65 b	6,82 a
Soja IIIC	1,14 d	1,89 b	3,35 c	1,96 bc	3,10 d
Soja IIIL	1,67 cd	1,45 b	3,75 bc	2,5 b	3,28 d
Soja IVC	1,68 cd	1,57 b	3,56 bc	2,17 bc	3,62 cd
Soja IVL	1,91 c	1,45 b	3,7 bc	2,42 bc	4,05 c
Soja VC		1,61 b	1,82 d	1,36 c	3,65 cd
Valor de p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV	19,91	27,29	12,63	28,35	14,43

Letras distintas indican diferencias significativas Test LSD Fisher ($P \leq 0,05$).

CUADRO 8. Eficiencia de uso de radiación (EUR) expresada en gramos de fotoasimilados por Megajoule interceptado por metro cuadrado.

Cultivo	Campaña Agrícola				
	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10
	EUR (g fotoasimilados MJ ⁻¹ m ⁻²)				
Girasol	0,22 b	0,31 a	0,19 b	0,30 a	0,24 d
Maíz	0,30 a	0,33 a	0,22 a	0,11 bc	0,40 a
Soja IIC	0,06 d	0,10 b	0,16 c	0,08 cd	0,26 d
Soja IIL	0,10 c	0,08 b	0,21 ab	0,13 b	0,27 cd
Soja IVC	0,09 c	0,08 b	0,20 ab	0,10 bcd	0,30 bc
Soja IVL	0,10 c	0,08 b	0,20 ab	0,12 b	0,34 b
Soja VC		0,09 b	0,09 d	0,07 d	0,32 b
Valor de p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV	19,3	26,7	12,74	25,37	14,85

Letras distintas indican diferencias significativas Test LSD Fisher (P≤0,05).

CUADRO 9. Eficiencia de uso de radiación (EUR) expresada en kilocalorías por Megajoule interceptado por metro cuadrado.

Cultivo	Campaña Agrícola				
	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10
	EUR (kcal MJ ⁻¹ m ⁻²)				
Girasol	0,62 b	0,87 b	0,54 b	0,84 a	0,67 c
Maíz	0,89 a	0,98 a	0,65 a	0,34 b	1,20 a
Soja IIC	0,14 d	0,24 c	0,40 c	0,21 de	0,65 c
Soja IIL	0,24 c	0,21 c	0,54 b	0,33 bc	0,69 c
Soja IVC	0,23 c	0,21 c	0,49 b	0,25 cde	0,76 bc
Soja IVL	0,26 c	0,20 c	0,50 b	0,31 bcd	0,85 b
Soja VC		0,23 c	0,22 d	0,17 e	0,81 b
Valor de P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV	19,47	27,35	12,64	25,92	14,55

Letras distintas indican diferencias significativas Test LSD Fisher (P≤0,05).

CONCLUSIONES

- El maíz presentó, en relación a la producción física de granos, la mayor EUA y la mayor EUR, con respecto al girasol y la soja de GM III C a V C. En condiciones de sequía el girasol resultó ser más eficiente en el uso de los recursos del ambiente que el maíz y la soja.
- La distribución de las lluvias en coincidencia con el período crítico de los cultivos parece ser la característica de mayor influencia en la EUA y EUR, en zonas donde el agua es un recurso limitante, sobre todo cuando se trata de cultivos estivales, generalmente sometidos a altas demandas atmosféricas.
- De los resultados encontrados y por las características semiáridas de la zona en estudio, se concluye que el cultivo de maíz y girasol se diferencian de la soja, pudiéndose aseverar que son los de mejor comportamiento, dependiendo de la cantidad y distribución del agua aportada por las precipitaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Aluko, G. K. and K. S. Fischer. 1987. The effect of changes of assimilates supply around flowering on grain sink size and yield of maize (*Zea mays* L.) cultivars of tropical and temperate adaptation. *Aust. J. Agric. Res.*, 38:153-161.
- Andrade, F. H., 1995. Analysis of growth and yield of maize, sunflower and soybean grown at Balcarce, Argentina. *Field Crops Res.* 41:1-12.
- Andrade, F. H. y J. M Gardiol. 1994. Sequía y producción de los cultivos de maíz, girasol y soja. *Boletín técnico* 132. EEA INTA Balcarce.
- Andrade, F. H., S. Uhart and Cirilo, A. 1993. Temperature affects radiation use efficiency in maize. *Field Crop Res.* 32(1-2):17-25
- Andrade, F., A. Cirilo, S. Uhart y M. Otegui, M. 1996. *Ecofisiología del cultivo de maíz*. Ed. La Barrosa. Buenos Aires. Marzo. 292 p.
- Board, J. E. A., T. Wier and D. J. Boethel. 1995. Source strength influence on soybean yield formation during early and late reproductive development. *Crop Sci.* 35(4):1 104-1 110.
- Casagrande, G., G. Vergara, L. Belmonte, M. Fuentes, J. Y. Arnaiz y J. Forte Lay. 2011. Mapas de riesgo agroclimático para cultivos de la región oriental agropecuaria de la provincia de La Pampa (Argentina). VI Congreso Cubano de Meteorología. Actas ISBN 978-959-7167-9-7. La Habana. Cuba.
- Castellarín, J. M., R. M. Pedrol y J. Andriani. 2005. Impacto del ambiente sobre el rendimiento de trigo en la campaña 2004/05 en Oliveros (Santa Fe). EEA Oliveros. INTA.
- Cirilo A. G. and F. H. Andrade 1994. Sowing date and maize productivity: I. Crop growth and dry matter partitioning. *Crop Science* 34(4):1 039-1 043
- Earl, H. J. and R. F. Davis. 2003. Effect of drought stress on leaf and whole canopy radiation use efficiency and yield of maize. *Agron. J.* 95(3):688-696.
- Eckhoff, S. R. and M. R. Paulsen. 1996. *Maize In: R.J: Henry y P.S. Kettwell (eds) Cereal grain quality*. Chapman y Hall. UK. 77-112 pp.
- Hattendorf, M. J., M. S Re delf, B. Amos, L. R. Stone and R. E. Gwin. 1988. Comparative water use characteristics of six row crops. *Agron. J.* 80(1):80-85.
- Jiang, H. and D. B. Egli. 1995. Soybean seed number and crop growth rate during flowering. *Agron. J.* 87(2):264-267.
- Mirasson, H., M. Faraldo, J. Arnaiz, C. Ferrero, M. Fernandez, O. Zingaretti, C. Ferrero, G. Vergara y G. Casagrande. 2010. Cultivos de Verano en la RSPC: Resultados de cinco años: maíz, girasol, soja y sorgo granífero. *Jornadas de Ciencia y Técnica*. Secretaria de Investigación y Posgrado. U.N.L. Pam.
- Muchow, R. C. and R. Davis. 1988. Effect of nitrogen supply on the comparative productivity of maize and sorghum in a semi-arid tropical environment II: radiation interception and biomass accumulation. *Fields Crops Res.* 18(1):17-30
- Novoa, R. and R. S. Loomis. 1981. Nitrogen and plant production. *In: J. Monteith and C. Webb (eds.) Soil Water and Nitrogen in Mediterranean-type Environments*. Martinus Nijhoff/Dr., W. Junk Publishers, The Hague, The Netherlands. 177-204 pp.
- Otegui M.E., F.H. Andrade y E.E. Suero. 1995. Growth, water use, and kernel abortion of maize subjected to drought at silking. *Field Crops Res.* 40(2):87-94.

- Pasarella, V. y R. Savin. 2003. Características fisicoquímicas de los granos. Cap I **In:** Producción de granos: bases funcionales para su manejo. Ed. FAUBA. UBA.
- Penning de Vries, F. W. T., A. H. M. Brunsting and H. H. Van Laar. 1974. Products, requirements and efficiency of biosynthesis: a quantitative approach. *Journal of Theoretical Biology* 45(2):339-377.
- Slafer, G. y F. Andrade. 1993. Physiological attributes related to the generation of grain yield in bread wheat cultivars released at different eras. *Field Crops Res.* 31(3-4):351-367.
- Sinclair, T. R. and R. C. Muchow 1999. Radiation use efficiency. *Adv. Agron.* 65:215-265.
- Sinclair, T. R. and C. T. de Wit. 1975. Photosynthate and nitrogen requirements for seed production by various crops. *Science* 189(4202):565-567.
- Tollenar, M. and T. W. Bruulsema. 1988. Efficiency of maize dry matter production during periods of complete leaf area expansion. *Agron. J.* 80:580-585.
- Trapani, N., A. J. Hall, V. O. Sadrás and F. Vilella. 1992. Ontogenetic changes in radiation use efficiency of sunflower (*Helianthus annuus* L.) crop. *Field Crop Res.* 29(4):301-316.
- Uhart, S. A. and F. H. Andrade. 1995. Nitrogen deficiency in maize. II. Carbon-nitrogen interaction on kernel number and grain yield. *Crop Science.* 35(5):1 384-1 389.
- Vega, C. R. C., V. O. Sadrás, F. H. Andrade and S. A. Uhart. 2000. Reproductive allometry in Soybean, Maize and Sunflower. *Ann.Bot. (London)* 85:461-468.
- Vergara, G. T y G. A. Casagrande. 2002. Estadísticas agroclimáticas de la Facultad de Agronomía. Santa Rosa, La Pampa, Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía. UNLPam.* Vol. 13(1-2).

INFLUENCIA DEL FENÓMENO EL NIÑO/OSCILACIÓN DEL SUR SOBRE LA PRECIPITACIÓN Y RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE MAÍZ EN EL MUNICIPIO PEÑA, ESTADO YARACUY, VENEZUELA

EL NIÑO/SOUTHERN OSCILLATION INFLUENCE ON PRECIPITATION AND CORN YIELD IN EL RODEO, PEÑA MUNICIPALITY, YARACUY STATE, VENEZUELA

Pedro P. Monasterio*, Francis Pierre**, Trino Barreto*, Carlos Marin***, Orlando Mora*,
Jacinto Tablante*, Waner Maturet* y Carlos Mendoza****

*Investigadores. INIA Yaracuy, **INIA Lara, ***INIA-CENIAP, Maracay, estado Aragua.

****Ejercicio Libre, respectivamente. Venezuela

Correo electrónico: pmonasterio@inia.gob.ve; climamaiz@hotmail.com; fpierre@inia.gob.ve

RESUMEN

Con la finalidad de estudiar la influencia del fenómeno El Niño/Oscilación del Sur (ENOS) sobre la cantidad y distribución de la precipitación (pp) y el rendimiento del maíz, *Zea mays* L., en El Rodeo, municipio Peña, estado Yaracuy, se analizaron los datos anuales y mensuales de pp para el fenómeno El Niño, La Niña y Neutro (Sin Evento), en el período 1950- 2009 (pp promedio 957,2 mm), determinándose las variaciones durante ambas fases del ENOS respecto a los años Sin Evento. Se encontró una tendencia al aumento de la pp durante El Niño (5,52%) y una disminución durante La Niña (8,98%), resultando las diferencias de cantidad de pp no significativas (ENS; $P > 0,05$). El análisis de la pp mensual mostró diferencias ENS ($P > 0,05$) entre los escenarios. Este patrón de pp es diferente al reportado para el territorio nacional. En el período de producción de maíz evaluado (2000-2009), se registró una intensificación del ENOS que afectó la distribución y cantidad de pp del segundo y tercer trimestre en los ciclos de siembra, siendo en ambas fases de ENOS superior, respecto a los años Sin Evento. El rendimiento promedio de las fases fue: 5 170; 4 700 y 5 620 kg ha⁻¹ para El Niño, La Niña y Sin Evento, respectivamente. Concluyéndose que independientemente de la cantidad de agua precipitada y del ENOS que ocurra, su distribución en el ciclo es la responsable del rendimiento, principalmente en las fases críticas donde el estrés por exceso o déficit de humedad afecta significativamente.

Palabras Clave: *Zea mays* L.; distribución de lluvia; El Niño; La Niña; producción; Yaracuy; Venezuela.

SUMMARY

The influence of El Niño/Southern Oscillation (ENOS) on the quantity and distribution of precipitation (pp) and corn, *Zea mays* L. yield in El Rodeo corn zone, Peña Municipality, Yaracuy state were studied. The annual and monthly data of quantity of pp were analyzed for El Niño, La Niña and Normal (Without Event) years, in the period 1950-2009 (pp average 957.2 mm), to determine the variations during both phases of ENOS regarding normal years. There was a trend to increasing pp during El Niño years (5.52%) and a decreasing during La Niña (8.98%), being the differences of quantity of annual pp statistically not significant (DNSE; $P > 0.05$) for both scenarios. Monthly pp analysis showed DNSE ($P > 0.05$) among the scenarios. This pp pattern is different to that reported for the country. In corn production period evaluated (2000-2009) there was an intensification of ENOS affecting the distribution and amount of pp the second and third trimester of the year where corn cycle is developing, raining during both phases of ENOS a superior quantity respect to Normal years. Corn yield average was 5 170; 4 700 and 5 620 kg ha⁻¹ for El Niño, la Niña and normal years, respectively, being concluded that, independently of the quantity of pp and the phase of ENOS that happens in the year, distribution of pp during corn cycle is the responsible for the yield, mainly in the critical phases where stress for excess or deficit of water affects significantly.

Key Words: *Zea mays* L.; rain distribution; El Niño; La Niña; yield; Yaracuy; Venezuela.

RECIBIDO: octubre 26, 2010

APROBADO: abril 17, 2012

INTRODUCCIÓN

La variabilidad climática es uno de los fenómenos ambientales más importantes y de mayor impacto en los últimos años. El período 1995 - 2006 contiene 11 de los 12 años más cálidos de los registros instrumentales de la temperatura mundial en superficie, y que abarcan desde 1850. Entre 1956 y 2005, el calentamiento lineal por decenio (0,13 °C) ha sido casi el doble del experimentado en los 100 años transcurridos desde 1906 hasta 2005.

Observando las tendencias de la precipitación (pp) entre 1900 y 2005, se concluye que durante ese período la pp aumentó considerablemente en la zona oriental de América del Norte y del Sur, norte de Europa y en el Asia septentrional y central, mientras que disminuyó en el Mediterráneo, partes del sur de Asia y África.

El Panel Intergubernamental para Cambio Climático (PICC, 2007), refiere que, en términos mundiales, la superficie afectada por las sequías probablemente ha aumentado desde los años 70. El elemento de variabilidad climática natural que mayores anomalías induce en la pp y la temperatura a escala global es El Niño/Oscilación del Sur (ENOS), que se manifiesta en una fase cálida denominada El Niño, y en una fase fría denominada La Niña (MARN, 2005).

En Latinoamérica, el ENOS ha ocasionado de manera directa o indirecta cuantiosas pérdidas en diversos sectores económicos que dependen del clima, con la consecuente generación de un alto costo social (Magaña y Vázquez, 2001), especialmente en el área de la agricultura, la cual depende en gran medida de la pp, siendo altamente vulnerable a la variabilidad climática interanual (Soley y Alfaro, 1999).

En Venezuela una de las principales actividades económicas del sector agrícola y de carácter social está basada en la producción de cereales, principalmente maíz, arroz y sorgo. El maíz se siembra prácticamente en todo el territorio nacional y casi la totalidad del maíz producido se cultiva durante la estación lluviosa. Para el año 2003, la producción de maíz nacional alcanzó la cifra de 1 823 237 t; el 79,99% de esa producción se concentró en los estados: Portuguesa (33,28%), Guárico (30,01%), Barinas (11,56%) y Yaracuy (5,14%) (Colls, 2007).

El valle medio del río Yaracuy es el asiento de la producción de maíz en el estado, que actualmente representa el primer cultivo rural y el segundo en la economía estatal,

ocupando el 14% del área total de siembra (Monasterio *et al.*, 2008).

Dalvano (2008) indica que el consumo de maíz blanco en la forma de harina precocida para el año 2007 fue de 32,9 kg/persona-año, se espera incrementarlo a 35 kg, según el Instituto Nacional de Estadística (INE) de Venezuela. La Confederación Nacional de Asociaciones de Productores Agropecuarios (FEDEAGRO) para el mismo año reporta 37,8 kg/persona-año y de acuerdo a sus datos el promedio de consumo fue de 34,5 kg/persona-año, en el período 1990-2009.

Considerando la dependencia que tiene la producción de maíz con el régimen pluviométrico, la necesidad de incrementar los rendimientos y las anomalías climáticas relacionadas con el ENOS, el objetivo de la presente investigación fue estudiar la influencia de dicho fenómeno (fase cálida y fría) sobre la cantidad y distribución de la pp en la zona de El Rodeo, municipio Peña, estado Yaracuy y su relación con el rendimiento del maíz, además de generar información para la realización de ajustes y toma de decisiones a nivel de agricultores y entes gubernamentales vinculados a la producción del rubro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el análisis de la pp mensual y anual, los datos se obtuvieron del registro de la estación meteorológica ubicada en el Campo Experimental de Yaritagua, del INIA-Yaracuy (Cuadro 1), zona de vida de bosque seco tropical en transición hacia el bosque muy seco tropical (Martínez *et al.*, 2005), y que cuenta con 60 años de registro histórico diario.

Los datos diarios faltantes de la serie analizada de pp, se obtuvo promediando los valores de las tres decenas anteriores, y las tres siguientes pertenecientes a la serie del mismo escenario donde se registró el dato. Para los valores faltantes del año 2007 se tomaron las cinco decenas anteriores y las siguientes; y para el año 2008 se tomaron las seis anteriores (Pereyra *et al.*, 2004).

Los valores de rendimientos del maíz en los ciclos evaluados, son los publicados por el Servicio Nacional de Semilla (SENASA), perteneciente a los Ensayos Regionales Uniformes de Híbridos Blancos de Maíz (ERUs), realizadas en el Campo Experimental de la Estación Local Yaritagua del INIA - Yaracuy.

CUADRO 1. Estación Meteorológica Yaritagua. Ubicación y datos del registro.

Ubicación	Organismo	Latitud	Longitud	Altitud (m.s.n.m.)	Período de registro	Extensión del registro
Estado Yaracuy, El Rodeo, municipio Peña,	INIA	10° 04'	69° 70'	308	1950 - 2009	60 años

Fuente: Agrometeorología. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA - Yaracuy). 2010.

La información sobre los años en que ocurrieron los eventos ENOS (fase cálida y fría) durante el lapso estudiado, se obtuvieron a partir de la base de datos del Golden Gate Weather Services (GGWS, 2010) de los Estados Unidos, la cual se fundamenta en una lista de consenso a partir de cuatro listas originales de los siguientes organismos: Western Region Climate Center (WRCC), Climate Diagnostics Center (CDC), Climate Prediction Center (CPC) y Multivariate ENSO Index from Climate Diagnostics Center (MEICDC).

La lista definitiva de los años El Niño, La Niña y Sin Evento (Cuadro 2), se elaboró mediante la comparación de consenso con cada una de las derivadas de los orga-

nismos, teniéndose como criterio para consider un año dentro de algunos de los escenarios, tres o más listas debían coincidir en sus apreciaciones (Pierre y Tirado, 2007).

Con los datos de lluvia se calculó el promedio de pp mensual para cada serie de años (El Niño, La Niña y Sin Evento). Para el análisis de la cantidad y distribución de la pp, se graficaron los datos de la estación, obteniéndose una curva para el total de los años en estudio, así como para cada uno de los escenarios (El Niño, La Niña y Sin Evento), observándose el comportamiento de las mismas en cada caso.

CUADRO 2. Clasificación de los Años Niño, Niña y Sin Evento.

Años	Eventos	Años	Eventos	Años	Eventos	Años	Eventos
1950	Niña	1965	Niño	1980	Sin Evento	1995	Sin Evento
1951	Sin Evento	1966	Sin Evento	1981	Sin Evento	1996	Sin Evento
1952	Sin Evento	1967	Sin Evento	1982	Niño	1997	Niño
1953	Sin Evento	1968	Sin Evento	1983	Niño	1998	Niño
1954	Sin Evento	1969	Sin Evento	1984	Sin Evento	1999	Niña
1955	Niña	1970	Niña	1985	Sin Evento	2000	Niña
1956	Niña	1971	Niña	1986	Sin Evento	2001	Niña
1957	Niño	1972	Niño	1987	Niño	2002	Niño
1958	Sin Evento	1973	Niña	1988	Niña	2003	Niño
1959	Sin Evento	1974	Niña	1989	Niña	2004	Niño
1960	Sin Evento	1975	Niña	1990	Sin Evento	2005	Sin Evento
1961	Sin Evento	1976	Niña	1991	Niño	2006	Niño
1962	Sin Evento	1977	Sin Evento	1992	Niño	2007	Niña
1963	Sin Evento	1978	Sin Evento	1993	Niño	2008	Niña
1964	Niña	1979	Sin Evento	1994	Niño	2009	Niño

Se calculó la cantidad total anual de pp para cada escenario, comparando las cifras obtenidas para los años El Niño y La Niña con las cantidades de los años Sin Evento, y se presentaron las variaciones en términos porcentuales. Este procedimiento se repitió posteriormente para el período 2000-2009, que corresponde con el período de siembra de maíz evaluado, calculándose adicionalmente la pp trimestral para cada escenario.

Para el cálculo de la Evapotranspiración real (ETR) se utilizó la fórmula de Hargreave y Samani (1985), determinada por Martínez *et al.* (2005) porque permite el cálculo de la ETO más ajustada a la zona de estudio: $ETO = 0,0135(T_{media} + 17,78) * R_s$; donde: $R_s = R_o * K_T * (T_{max} - T_{min})^{0,5}$, ETO = evapotranspiración potencial en mm/día; T_{med} , T_{min} y T_{max} = temperatura media, mínima y máxima diaria en grados Celsius (°C), respectivamente. R_o = radiación solar extraterrestre, en mm/día y R_s = la radiación solar incidente convertida en mm/día. K_T = coeficiente con valor de 0,162 para las regiones del interior y 0,190 para regiones costeras.

Todos los valores de los parámetros meteorológicos son del registro de la estación meteorológica del campo experimental Yaritagua, INIA-Yaracuy.

Con dicha fórmula se calculó la demanda del ambiente y se construyó el balance hídrico climatológico, siguiendo las metodologías de Thornthwaite y Mather (1955) y Lozada (2003). Para el cálculo del porcentaje de retención de humedad del suelo, se utilizó el método gravimétrico; la profundidad de muestreo fue de 15 cm., zona donde se agrupa el mayor número de raíces en el maíz. Para la densidad aparente (D_a) se tomaron muestras en tres sitios del área de ensayo, según la metodología del cilindro no disturbado, aplicando la fórmula: masa de sólidos por unidad de volumen total de suelo (D_a) es igual a peso seco (ms)/vol. total(vt) (Alliaume, 2007).

En el análisis estadístico de los datos se verificó la normalidad en las series de pp con las pruebas de Shapiro-Wilks y Kolmogorov - Smirnov. Para los datos que no cumplieron con el supuesto de normalidad, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis y la comparación de rangos múltiples para k muestras independientes (Montgomery, 2006). Con la sumatoria de las cantidades de agua precipitada en las semanas de las distintas etapas de los ciclos, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) de la varianza total y se extrajeron los dos primeros autovalores que explicaron el 90% de la variación; posteriormente fueron representados con la gráfica de doble representación: Biplot (Morrison, 1976).

Asimismo, se calculó el coeficiente de correlación lineal (CCL) de Pearson y coeficiente de variación (CV), desviación estándar (DS), Media aritmética (\bar{X}) y Coeficiente de regresión (CR) para ratificar la relación del rendimiento contra las cantidades de agua en las etapas. En la tabulación, cálculo y procesamiento de los datos se empleó la hoja de cálculo electrónica Microsoft® Excel 2003. Para el análisis de la varianza y coeficientes de determinación fue utilizado el programa Statistix versión 8.0. El ACP se hizo con el Infostat v1.0/Profesional (Universidad Nacional de Córdoba, República de la Argentina, 2004). Estos análisis se aplicaron al valor promedio anual de pp y a cada uno de los promedios mensuales en los diferentes escenarios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción de la cantidad y distribución de la precipitación en El Rodeo, municipio Peña

Para el período 1950 - 2009 (Figura 1), el promedio anual de pp es de 958,18 mm, distribuidos estacionalmente en forma unimodal, presentándose el pico de pp en el mes de junio (180,11 mm).

El promedio anual de pp para las series de datos Sin Evento (26 años) es de 965,0 mm; El Niño (17 años) 1 008,5 mm; La Niña (17 años) 897,5 mm. No se detectaron diferencias significativas entre los diferentes escenarios (Cuadro 3).

Con relación a la distribución estacional de la pp para el período bajo estudio (Figura 2), se observa para los años Sin Evento una distribución bimodal, con el primer pico de pp en junio (181,9 mm) y el segundo en octubre (94,1 mm), mientras que para los años El Niño y La Niña, la distribución es unimodal, desplazándose durante El Niño el pico de pp al mes de julio (189,7 mm).

En el caso de la Niña, el pico de pp se mantiene en junio (181,7 mm). En el mes de octubre, los años El Niño (85,7 mm) y La Niña (83,4 mm) registran una pp inferior a la registrada en los años Sin Evento (94,1 mm), aunque en el mes anterior, septiembre, esta situación se invierte, registrando los años Sin Evento (84,1 mm) una pp inferior a los años El Niño (89,5 mm) y La Niña (102,2 mm).

El análisis estadístico de los datos mes a mes no indicó diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los años El Niño, La Niña y Sin Evento (Cuadro 4).

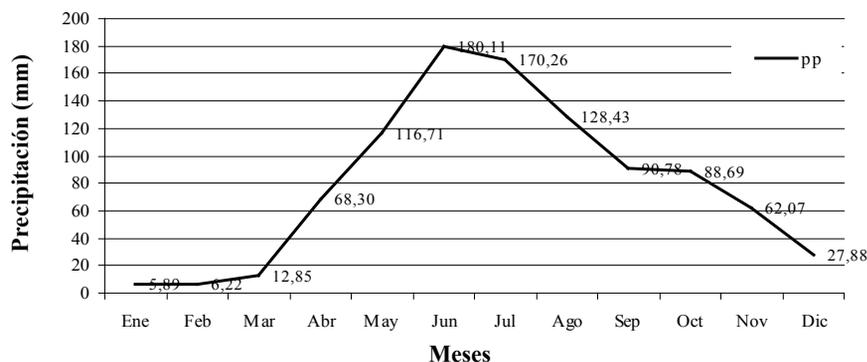


FIGURA 1. Cantidad y distribución de la precipitación. Estación Yaritagua. El Rodeo, municipio Peña. Período 1950-2009.

En Venezuela, para los eventos El Niño, las precipitaciones tienden a ser inferiores al promedio, mientras que para La Niña se genera un incremento respecto a la Media (Ropelewsky y Halpert, 1987; Fonghin-Pillin, 2002). Lozada (2002) reporta una influencia negativa de El Niño sobre las precipitaciones en la región centroccidental de Venezuela que pudiera estar asociada a cambios en los vientos en la superficie del Pacífico Ecuatorial. Sin embargo, se observa en el caso de El Rodeo un patrón de pp inverso con relación a las fases cálida y fría del ENOS que no se corresponde con el comportamiento reportado, aún cuando estas diferencias entre eventos no son estadísticamente significativas. En Argentina (Norte *et al.*, 1997), Perú (Rome-Gaspaldy y Ronchail, 1999) y Brasil (Fontana y Berlatto, 1997), reportaron incrementos de la pp durante El Niño, mientras que en Texas, Reynolds (1998), reportó una disminución de la pp durante La Niña.

CUADRO 3. Estación Yaritagua. Porcentaje de variación de la cantidad de precipitación en los años El Niño y La Niña respecto a los años Sin Evento. Período 1950-2009.

Evento	Período (años)	Precipitación (mm)	Variación (%)
El Niño	17	1 008,5 a	+ 4,51
La Niña	17	897,5 a	- 6,99
Sin Evento	26	965,0 a	

Letras distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) según Prueba de Kruskal - Wallis

La Corporación Andina de Fomento (CAF, 2000) señala que en Ecuador, Perú y Colombia se han determinado correlaciones entre la evolución de las anomalías oceánicas de la temperatura de la superficie del mar en el Pacífico Ecuatorial (El Niño), las anomalías en la presión en el mismo Pacífico (Índice de Oscilación del Sur) y las anomalías en el régimen de precipitaciones, pero los efectos en el ámbito regional dependen, entre otros, de factores orográficos.

En Venezuela, donde estas señales no son tan claras o no se conocen por su complejidad, se observan diferentes respuestas frente a las mismas.

Análisis del ENOS período 2000 - 2009 y su influencia sobre la precipitación

Al analizar el período 2000 - 2009 (Cuadro 5), se puede observar en primer lugar, un aumento en la ocurrencia del fenómeno ENOS con relación a la serie 1950 - 2009. De los 10 años que comprende el período, sólo uno resultó Sin Evento (2005), mientras que cinco fueron años El Niño y cuatro La Niña.

Por otro lado, la tendencia registrada para la serie completa (1950-2009) de incrementos en la pp durante los años El Niño y disminución de la pp durante los años La Niña, con respecto a los años Sin Evento no se mantiene para el período en estudio. El promedio anual de pp durante los años El Niño y La Niña fue superior en un 30,25 y 9,32%, respectivamente, con relación a los años Sin Evento.

Asimismo, el año Sin Evento tuvo una pp anual 22,4% inferior (748,8mm) al valor registrado de 965,0 mm para el promedio de la serie Sin Evento completa (Cuadro 5).

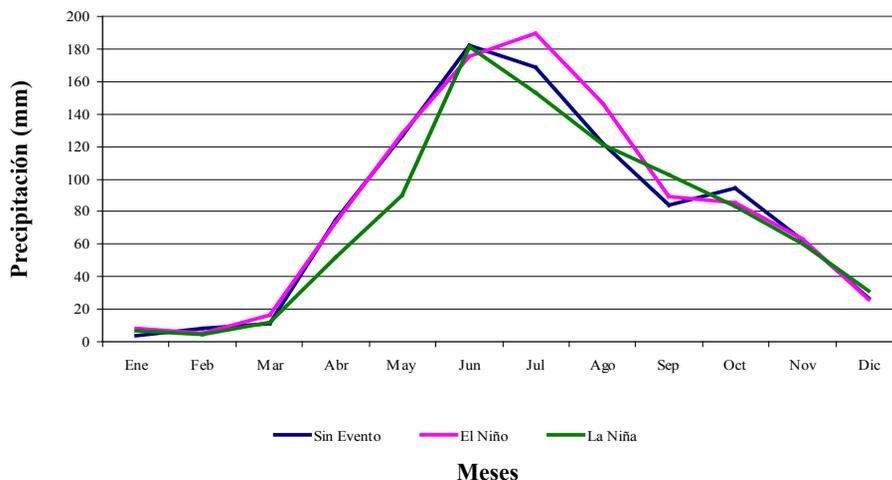


FIGURA 2. Estación Yaritagua. Distribución de la precipitación período 1950-2009. Años El Niño, La Niña y Sin Evento.

CUADRO 4. Estación Yaritagua. Resultados de los Análisis Estadísticos Mensuales. Período 1950 - 2009.

Mes	El Niño	La Niña	Sin evento	Mes	El Niño	La Niña	Sin evento
Enero	8,2 a	6,4 a	4,0 a	Julio	189,7 a	153,5 a	168,5 a
Febrero	5,0 a	4,2 a	8,4 a	Agosto	146,2 a	121,2 a	121,6 a
Marzo	16,4 a	11,7 a	11,3 a	Septiembre	89,5 a	102,3 a	84,1 a
Abril	73,9 a	52,0 a	75,3 a	Octubre	85,7 a	83,4 a	94,1 a
Mayo	128,2 a	90,0 a	126,7 a	Noviembre	63,6 a	60,0 a	62,4 a
Junio	175,8 a	181,1 a	181,9 a	Diciembre	26,4 a	31,3 a	26,6 a

Prueba de medias por mes o fila. Letras distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en la Prueba de Kruskal - Wallis.

CUADRO 5. Fenómeno ENOS. Período 2000 - 2009. El Rodeo, municipio Peña estado Yaracuy.

Años	Cantidad	PAP	% Variación
El Niño	5	975,3	+30,25%
La Niña	4	818,6	+9,32%
Sin Evento	1	748,8	

En la Figura 3 se presenta la distribución de la pp durante los 10 años analizados

Al analizar la distribución anual de la pp por trimestre, se puede observar que en todos los escenarios, más del 70% de la pp se concentró en los trimestres T2 y T3, que se corresponden con el período abril - septiembre (Cuadro 6). Sin embargo, al analizar en detalle, se verifica que en el segundo trimestre durante los años El Niño la pp fue 11,36% superior en relación a los años Sin Evento, mientras que en los años La Niña fue 25,16% inferior. Durante el tercer trimestre la pp en los años El Niño y La Niña fue 40,1 y 17,15% superior, respectivamente, con relación a los años Sin Evento.

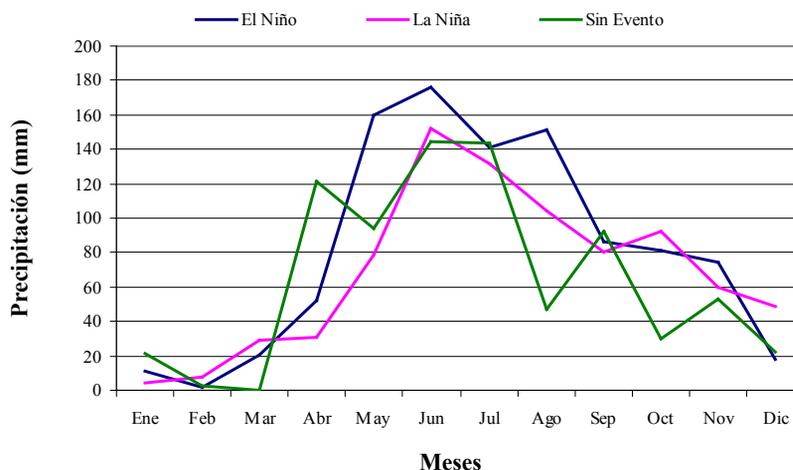


FIGURA 3. Distribución de la precipitación. Años El Niño, La Niña y Sin Evento. Período 2000-2009.

CUADRO 6. Distribución trimestral de la precipitación. Estado Yaracuy, municipio Peña. Período 2000-2009.

Evento	T1	T2	T3	T4	(2 + 3)	2 + 3 (%)
El Niño	33,9	389,1	378,2	173,9	767,3	78,7
La Niña	40,8	261,2	316,3	200,3	577,5	70,6
Sin Evento	23,6	349,4	270,1	105,7	619,5	82,7

Este análisis trimestral tiene singular significación, ya que durante los trimestres dos y tres se realiza el ciclo de siembra del cultivo del maíz.

Análisis del ENOS período 2000 - 2009 y su influencia sobre el rendimiento del maíz

En el Cuadro 7 se pueden observar los rendimientos promedio de maíz para cada uno de los escenarios, siendo superior durante los años con eventos El Niño que con La Niña. Además, se destaca el año Sin Evento cuya producción de grano es mayor a pesar que a la cantidad de agua precipitada en el T₃ es inferior 60,7% con respecto a los años El Niño y 52,8% con respecto a los años La Niña. Esta disminución del total de agua precipitada en el ciclo, no afectó el llenado satisfactorio del grano, ya que la cantidad de lluvia en las semanas 12 y 13 (floración), 35,1 y 24,1 mm, respectivamente, estuvo por encima de los niveles limitantes. En tal sentido, Bergamaschi *et*

CUADRO 7. Rendimiento del maíz. Años El Niño, La Niña y Sin Evento. 2000 - 2009.

Años	Cantidad PAP	% Variación	Rendimiento de maíz (t ha ⁻¹)
El Niño	5	975,3 (+) 23,53%	5 170,0
La Niña	4	818,6 (-) 9,32%	4 256,7
Sin Evento	1	748,8	5 620,0

al. (2006) y Miccuci *et al.* (2005) indican que el déficit de agua tiene el mayor impacto en los rendimientos de maíz cuando ocurre durante la floración.

Los Cuadros 8 y 9 muestran las cantidades de agua en los ciclos por semana y su cantidad por etapas de desarrollo con su rendimiento, respectivamente. En función de sus valores podemos analizar el volumen de agua precipitado. Se observa que en los años La Niña (2000, 2001, 2007 y 2008) existe una tendencia hacia la reducción en la cantidad de pp, siendo la pp del año 2007 de 336,5 mm en el ciclo y 291,0 mm en las etapas críticas; esta reducción tan marcada es insuficiente para cubrir los requerimientos del cultivo, expresándose en la producción de grano de sólo 2 120 kg ha⁻¹. Asimismo, en esta fase fría del ENOS se alcanzó el mayor rendimiento en el año 2001 con 5 874,4 kg ha⁻¹, destacando además un nivel de pp de 599,4 y 512,2 mm en el ciclo y etapas críticas del cultivo, respectivamente.

CUADRO 8. Balance de agua precipitada en mm y distribución en ciclo de siembra de variedades blancas de maíz por semana. Campo Experimental de la Estación local Yaritagua del INIA. Estado Yaracuy, municipio Peña.

Año	Variable	Mayo			Junio			Julio			Agosto			Septiembre			Precipitación Ciclo y etapas críticas			
		3	4		5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		17	18	19
2000	Ciclo precip.	28,9	41,0		48,4	63,8	7,3	98,7	57,3	10,3	30,0	83,8	39,5	27,0	73,3	27,3	57,9	48,9	21,2	34,5
	ETR	28,9	41,0		30,9	27,9	22,8	40,4	30,2	25,8	28,8	46,9	29,9	28,5	30,4	42,8	30,2	32,2	31,1	40,0
	Almac.*	0,0	0,0		15,5	15,5	0,0	15,5	15,5	0,0	1,2	15,5	15,5	14,0	15,5	0,0	15,5	15,5	5,6	0,0
2001	Ciclo precip.	11,2	60,4		74,0	9,0	37,1	60,4	19,5	57,0	10,5	11,9	69,3	42,8	60,3	7,7	29,1	10,1	29,1	0,0
	ETR	11,2	50,4		27,7	24,5	31,0	38,3	30,2	28,6	26,0	11,9	28,8	28,0	29,1	23,2	29,1	10,1	29,1	0,0
	Almac.*	0,0	10,0		15,5	0,0	6,1	15,5	4,8	15,5	0,0	0,0	15,5	15,5	15,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2002	Ciclo precip.	29,8	132,3		21,1	32,3	71,4	24,1	15,9	14,0	23,6	27,1	6,7	16,3	50,1	58,8	12,7	21,4	8,5	11,6
	ETR	33,7	48,3		30,9	31,9	28,8	39,7	15,9	14,9	23,6	27,1	6,7	16,3	30,5	48,5	28,2	21,4	8,5	11,6
	Almac.*	3,2	15,5		5,7	6,1	15,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	15,5	15,5	0,0	0,0	0,0	0,0
2003	Ciclo precip.	63,7	68,0		23,0	76,7	51,4	56,8	15,5	32,5	3,8	61,0	54,5	51,5	0,0	32,2	0,0	80,3	39,7	38,1
	ETR	28,1	45,2		28,6	29,5	27,4	42,1	29,2	31,9	6,2	47,7	29,1	28,7	15,5	32,2	0,0	29,6	30,3	40,3
	Almac.*	15,5	15,5		9,9	15,5	15,5	15,5	1,8	2,4	0,0	13,3	15,5	15,5	0,0	0,0	0,0	0,0	15,5	15,5
2004	Ciclo precip.	89,0	30,8		56,6	81,5	21,2	90,4	0,0	63,1	58,7	17,5	12,1	20,8	84,6	31,2	8,3	1,2	37,4	2,1
	ETR	30,2	46,3		29,5	27,9	28,8	43,4	31,9	31,1	24,9	33,9	12,1	20,8	32,0	46,7	8,3	1,2	36,7	2,8
	Almac.*	15,5	0,0		15,5	15,5	7,9	15,5	15,5	15,5	15,5	0,0	0,0	0,0	15,5	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0
2005	Ciclo precip.	9,0	41,5		23,5	19,3	89,4	12,3	72,6	1,8	34,4	35,1	24,1	0,0	13,2	9,6	37,8	7,6	4,8	42,0
	ETR	17,5	41,5		23,5	19,3	33,7	27,8	30,5	17,3	30,3	39,2	24,1	0,0	13,2	9,6	31,9	13,6	4,8	41,9
	Almac.*	0,0	0,0		0,0	0,0	15,5	0,0	15,5	0,0	4,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0	0,0	0,0	0,1
2006	Ciclo precip.	20,2	8,1		28,6	111,6	36,4	48,6	25,6	61,9	21,0	29,6	10,7	48,5	34,0	41,0	6,7	12,6	72,7	4,5
	ETR	20,2	8,1		28,6	28,5	28,1	38,1	26,3	27,7	27,7	38,4	10,7	30,2	32,1	46,4	16,8	12,6	30,3	20,0
	Almac.*	0,0	0,0		0,0	15,5	15,5	15,5	14,8	15,5	8,8	0,0	0,0	15,5	15,5	10,1	0,0	0,0	15,5	0,0
2007	Ciclo precip.	21,2	22,3		36,8	30,8	5,9	21,6	44,6	53,1	2,2	24,7	0,6	23,3	31,3	26,8	8,3	17,8	6,6	2,1
	ETR	21,0	22,0		29,7	29,6	10,8	22,0	28,9	30,0	17,2	25,0	0,6	23,0	30,6	27,4	8,3	18,0	6,6	2,0
	Almac.*	0,0	0,0		7,3	4,9	0,0	0,0	15,0	15,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2008	Ciclo precip.	40,6	36,4		41,5	42,7	51,1	36,6	28,7	41,4	41,2	32,9	30,8	24,7	35,0	21,2	47,3	48,7	40,8	41,4
	ETR	34,5	30,9		35,3	36,3	43,4	31,1	24,4	35,2	35,0	28,0	26,2	21,0	29,8	18,0	40,2	41,4	34,7	35,2
	Almac.*	15,0	15,0		15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
2009	Ciclo precip.	29,2	0,0		0,0	18,9	13,8	18,7	11,6	45,7	75,4	66,6	75,0	63,6	18,5	26,3	20,2	0,3	5,6	23,4
	ETR	29,2	0,0		0,0	18,9	13,8	18,7	11,6	33,6	32,7	36,0	29,8	34,3	33,5	26,3	20,2	0,3	5,6	23,4
	Almac.*	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,1	15,0	15,0	15,0	15,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Almacenamiento de estrato suelo: 15,5 mm de agua

Secado a cosecha

Llenado-grano a jojoto

Flor-Polimización

Desarrollo

CUADRO 9. Rendimiento, cantidad, distribución y promedio diario agua en mm por etapas de desarrollo en ciclo de siembra de híbridos blancos. Campo Experimental del INIA en la Estación local de Yaritagua. Estado Yaracuy. El Rodeo, municipio Peña.

Años	Rendim. promedio (kg ha ⁻¹)	Ciclo de desarrollo del cultivo					Llenado de grano (d)	Prom. diario
		Crecimiento vegetativo			Floración			
		Desarrollo (a)	Semana antes floración	Total (a+b)	Polinización (c)	Total: (b+c)		
2004 ⊖	6 900	280,5	63,1	343,6	58,7	121,8	135,0	4,478
2002 ⊖	5 680	202,4	27,1	229,5	6,7	33,8	137,9	3,118
2005 SE	5 620	258,6	1,8	260,4	34,4	36,2	72,4	3,06
2003 ⊖	5 430	236,7	61,0	297,7	54,5	115,5	83,7	3,633
2001 Φ	5 310	260,1	57,0	317,1	10,5	67,5	184,2	4,265
2008 Φ	4 887,5	274,6	30,8	305,4	24,7	55,5	152,2	4,019
2000 Φ	4 710	315,8	83,8	399,6	39,5	123,3	185,5	5,205
2006 ⊖	4 330	334,7	10,7	345,4	48,5	59,2	94,3	4,788
2009 ⊖	3 510	250,7	75,0	325,7	63,6	138,6	65,3	3,788
2007 Φ	2 120	182,9	0,6	183,5	23,3	23,9	84,2	2,425
\bar{X}	4 948,4	266,0	41,09	313,2	36,44	77,53	117,2	3,572
CCL		0,45	0,23	0,42	0,00	0,16	0,38	0,578
CV	0,534	0,68	2,22	0,56	0,99	1,50	0,60	0,511
DS	1 354,7	53,15	30,76	71,84	19,96	43,06	44,08	1,118

ENOS

El Niño= ⊖

La Niña= Φ

SE= Sin Evento

 \bar{X} : Media aritmética; CCL: coeficiente de correlación lineal de Pearson; CV: coeficiente de variación; DS: desviación estándar.

La distribución semanal de agua de lluvia en la fase de floración y la primera semana de la fase llenado de grano alcanzó 10,5 mm y 11,9 mm, respectivamente, cantidades consideradas insuficientes para cubrir las necesidades del cultivo, originándose la reducción del rendimiento hasta ubicarlo en el sexto lugar de los años analizados. En las otras etapas del cultivo, la cantidad de lluvia fue suficiente en función de los resultados mostrados en los otros ciclos, con excepción de la etapa de secado de grano, en la cual la planta disminuye fuertemente el consumo de agua.

En el Cuadro 9, se muestra la cantidad de agua por semana y etapas de desarrollo. Sobresale que el menor rendimiento se obtuvo cuando la cantidad de agua antes de la polinización (etapa de floración) fue menor, independientemente del ENOS que ocurra en el año,

incrementándose la reducción, si la misma situación sucede durante la polinización (etapa de floración), como se observa en los años 2007 con 0,6 y 23,3 mm y 2006 con 10,7 y 48,5 mm de agua. También muestra una baja asociación del rendimiento con respecto a las cantidades de agua en las distintas etapas el ciclo, de acuerdo a los valores del coeficiente variación CV y CCL. Sin embargo, la mejor asociación es con el promedio diario, lo que ratifica que no es la cantidad, sino la distribución del agua en las diferentes etapas.

En contraste, durante el año 2000 en la misma fase fría del ENOS, la distribución semanal de la pp alcanzó los mayores valores en ciclo (770,2) y etapas críticas del cultivo (624,6 mm). Como resultado se alcanzó un rendimiento de apenas 4 710 kg ha⁻¹, valor que ubica a este año, como el séptimo durante el período.

Cuando los valores de pp durante el ciclo de cultivo están entre 537,3 y 704,0 mm, los rendimientos tienden a ser altos independientemente de la fase del ENOS, observándose la tendencia a ser mayores durante los eventos El Niño. Cleber *et al.* (2006) muestran que una mayor disponibilidad de agua del suelo se asocia a los años El Niño y una menor disponibilidad a los años neutros (Sin Evento).

Coincidentemente, en el período evaluado durante los años El Niño llovió más que en los años La Niña, y en ambas fases más que en el año Sin Evento, siendo los años El Niño los más favorables para el rendimiento del maíz, fase en la que se logró obtener 6 900 kg ha⁻¹ en el año 2004 con 704,0 mm de agua en ciclo y 537,3 mm en etapa crítica; pero en el 2009 fue de 3 510 kg ha⁻¹, representando una disminución de 3 390 kg ha⁻¹ (34,43%). Esta reducción en grano es similar en valor al promedio nacional de producción de maíz en los estados productores de Venezuela.

Mientras que en el año 2005 (Sin Evento), precipitaron 478 mm de lluvia en el ciclo del cultivo con 362,2 mm durante las etapas críticas, lo que permitió alcanzar un rendimiento en maíz de 5 620 kg ha⁻¹. Se observa que, aunque no existió almacenamiento en la fase de desarrollo a excepción de la semana nueve, la cantidad

de agua precipitada en las fases de floración y llenado de grano, fue suficiente para obtener el rendimiento citado (Cuadro 8).

En la Figura 4, se muestra la distribución de los años ENOS analizados, notándose que los mejores rendimientos se producen con mayor frecuencia en los años El Niño (2004, 2002 y 2003), mientras que ocurre solo una vez en el período La Niña (2000). Existe una relación inversa entre la producción de grano y la cantidad de agua crítica acumulada en el ciclo mostrada por el ángulo entre ellas (180°), lo que sugiere que los rendimientos obedecen más a la distribución de ese volumen de agua en el ciclo, sobre todo antes de la fase llenado de grano a jojoto.

Se observa que las fases están todas en los cuadrantes I y IV, lo que indica una alta relación entre ellas; los cuatro rendimientos más bajos aparecen en el cuadrante tres, asociados a la variable cantidad de agua acumulada. Se destaca que la diferencia en kg ha⁻¹ entre los años La Niña 2008 y 2000 es de 117, pero la cantidad de agua en el año 2000 es la más alta de dichos años (799,1 mm en el ciclo y 624,6 mm en las etapas críticas). Sin embargo, las diferencia en kg ha⁻¹ entre el 2000 y el 2004 (El Niño) es de 2 190, lo que sugiere nuevamente que no es la cantidad sino la distribución del agua la responsable del rendimiento.

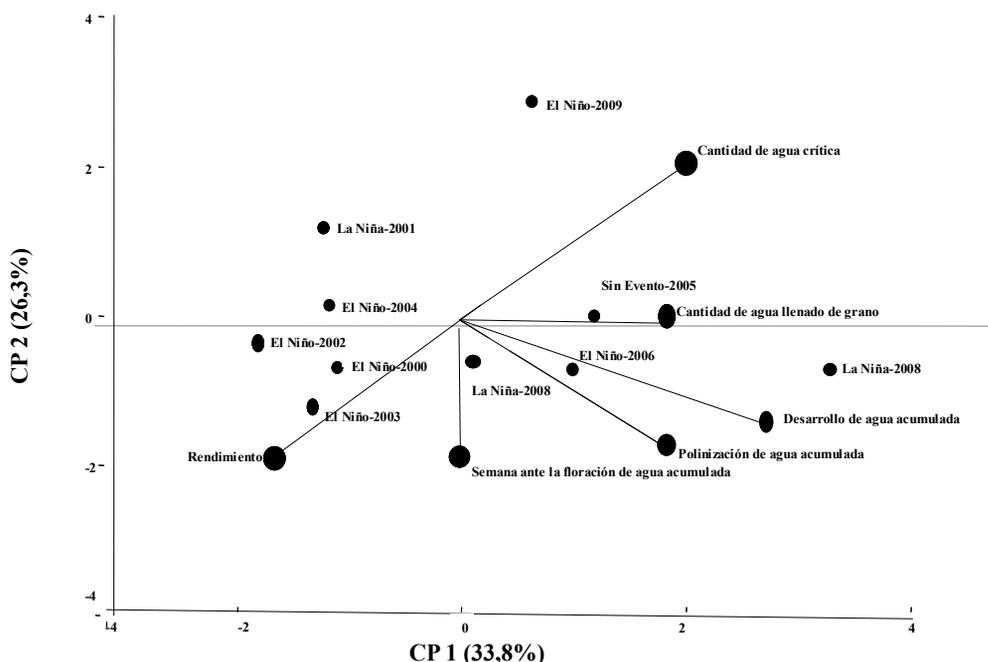


FIGURA 4. Representación (biplot) de la relación entre el rendimiento y cantidad de agua acumulada por etapas del cultivo contra las fases de ENOS. Estación Experimental Yaritagua, INIA Yaracuy, 2010.

Para todos los eventos, las cantidades de agua que precipitaron en la etapa de llenado del grano (agosto), principalmente durante las dos primeras semanas, fueron suficientes. Observando los valores semanales de los años 2004 y 2007 (mayor y menor rendimiento obtenido, respectivamente), se puede inferir que la reducción por estrés, en los diez años analizados, estuvo principalmente asociada al ocurrido durante las fases vegetativas y de floración, independientemente de la cantidad de pp y la fase del ENOS presente. Lo importante es cómo se distribuye por semana la cantidad de agua precipitada (Cuadros 8 y 9).

El maíz es altamente susceptible a las deficiencias de agua en floración, reduciéndose severamente el llenado de granos. En caso contrario, el efecto es menos severo como lo muestra el año 2002, donde precipitó en la semana antes de floración y polinización 27,7 y 6,7 mm, respectivamente, alcanzándose un rendimiento de 5 620 kg*ha⁻¹; inclusive, el año 2005 recibió 1,8 mm en la semana antes de floración, gracias al almacenamiento disponible de la semana nueve y los 34,4 mm de agua precipitados en polinización, el cultivo logró alcanzar el segundo mejor rendimiento del período evaluado.

Al observar las cantidades de agua precipitada en las diferentes etapas del ciclo, se evidencia que el rendimiento se relaciona más con la distribución de la pp que con la cantidad, siendo la semana antes de la floración donde el déficit hídrico afecta significativamente la producción. Valentinuz (2004) determinó que el maíz es particularmente sensible al estrés en el momento de la floración; este mismo estrés tendría poco efecto sobre el rendimiento si ocurriera en una etapa vegetativa o de llenado del grano.

Analizando el promedio de pp diaria se puede inferir que cuando se ubica por debajo de 3 mm, los rendimientos disminuyen (ej. 2007: 2 120 kg ha⁻¹ y 2,425 mm/día), probablemente debido a que las cantidades precipitadas no cubrieron la demanda de la planta en algunas de las etapas.

Cuando la pp diaria se ubicó por encima de 3,00 mm, se incrementó la producción de grano, como se observa en el ciclo 2004, el cual muestra el valor más alto (6 900 kg ha⁻¹ y 4,478 mm/día); seguido del 2008 (4 887,5 kg ha⁻¹ y 4,019 mm/día). A pesar de que el año 2000 también registró una pp diaria superior a 3 mm (4 710 kg ha⁻¹ y 5,205 mm/día), ocupó el puesto siete en producción. Se infiere, al comparar las 16 semanas del ciclo en el balance, que la disminución fue por exceso de agua.

Cabrera (2005) explica que el éxito de la siembra del maíz depende de la intensidad y distribución de las lluvias y de la radiación que recibe en sus fases fenológicas de desarrollo y producción; la mala distribución de la lluvia asociada a días nublados en los primeros 60 d del ciclo producen rendimientos limitados.

El maíz tiene períodos donde es vital que la planta tenga agua disponible, pero los más críticos son los de floración y llenado de grano. Monasterio *et al.* (2008) demuestran que la cantidad de lluvia caída durante la etapa de prefloración y llenado de grano, determinan significativamente los rendimientos de maíz en la zona de estudio.

Bergamaschi *et al.* (2004, 2006) concluyeron que independientemente de la condición climática regional, la productividad de granos se debe a las condiciones hidrológicas durante el período crítico, ya mencionado. Riegos durante esta etapa permiten una alta productividad de granos, inclusive si la humedad del suelo se mantiene por debajo de la capacidad de campo del terreno.

El número de granos por mazorca y el número de mazorcas por planta, son los componentes de la producción de grano más afectados por el déficit de agua cuando esto ocurre durante períodos críticos del maíz. Monasterio *et al.* (2007), coincidieron que sembrando el maíz a mediados de junio, las etapas de floración y llenado de grano se encuentran ubicadas en los dos meses más lluviosos del año en la zona de El Rodeo, existiendo altas probabilidades de no sufrir estrés hídrico en las etapas críticas.

Valentinuz (2004) explicó que el estrés reduce el rendimiento afectando drásticamente al maíz cuando ocurre en el período crítico, y puede disminuir en una décima la producción potencial de granos.

En el período estudiado (2000-2009), El Niño afectó menos el rendimiento del maíz (a pesar de llover más), porque los cambios en la distribución de la pp durante esta fase no fueron tan acentuados como durante La Niña. En esta fase, en el tercer trimestre llovió mucho más con relación a los años El Niño y Sin Evento; al ocurrir en ese trimestre la floración, se afectó la polinización y consecuentemente el llenado de grano.

Este mismo resultado lo obtuvieron Casa y Ovando (2006), quienes determinaron que durante los años El Niño predominan anomalías positivas de rendimiento de

maíz, aunque son de poca magnitud; por el contrario, en los años bajo la influencia de La Niña ocurren anomalías negativas de rendimiento más importantes y con una frecuencia distinta tanto a la de los años El Niño, como también a la de los años Neutros (Sin Evento), es decir, que se presentan de manera claramente diferenciadas.

CONCLUSIONES

- La tendencia de la pp para la serie 1950 - 2009 en El Rodeo, es hacia incrementos durante los años El Niño y disminución durante los años La Niña. Sin embargo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los eventos. Para el período 2000 - 2009, se observó una intensificación del fenómeno ENOS en ambas fases (5 años El Niño; 4 años La Niña y 1 año Sin Evento).
- La distribución de la pp en el ciclo de siembra del maíz es la responsable de la variabilidad en los rendimientos, independientemente del ENOS que ocurra; sin embargo, la tendencia de los 10 años es a favor de los años El Niño, que ocupan tres de los cuatro rendimientos más altos. En el caso de los años La Niña, el cambio en la distribución reflejado en incrementos de la pp durante el tercer trimestre, coincidieron con la etapa de floración y afectaron la producción de granos.
- Durante el período analizado, la pp ocurrida en las dos primeras semanas de la etapa de llenado de grano fue suficiente para cubrir las necesidades de la planta.
- La etapa más sensible a las deficiencias de agua en los ciclos productivos analizados fue la etapa de floración, seguida de desarrollo vegetativo y llenado de grano. Si el déficit ocurre en la semana antes de la polinización, es más severa la reducción del rendimiento al afectar este proceso.

RECOMENDACIONES

Se recomienda a los entes que tengan estaciones meteorológicas bajo su responsabilidad, fortalecer las redes con equipos modernos a fin de contribuir al análisis y evaluación de las variables climáticas, especialmente de la pp, vinculada estrechamente a las ganancias o pérdidas a nivel de productor, y cuyas fluctuaciones actuales se asocian directamente a la variabilidad climática global.

AGRADECIMIENTO

A Tony Yépez responsable de la Estación Meteorológica del Campo Experimental de la estación local de Yaritagua, por su dedicación en la toma de datos, orden en el registro y cuidado de los equipos.

BIBLIOGRAFÍA

- Alliaume, F. 2007. Propiedades Físicas. <http://www.fagro.edu.uy/~edafologia/curso/Material%20de%20lectura/TEORICOS/TFisicas.pdf>
- Ayala, J. 1998. Análisis de la competitividad de los cereales en Venezuela. AGROALIMENTARIA. Nº 7. Diciembre. Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas.
- Bergamaschi, H., G. A. Dalmago, J. I. Bergonci, C. A. Menegassi, A. G. Muller, F. Comiran e B. M. Machado. 2004. Distribuição Hídrica no Período Crítico do Milho e Produção de Grãos. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 39(9):831-839.
- Bergamaschi, H., G. A. Dalmago, F. Comiran, J. I. Bergonci, A. Muller., S. Franca, A. Santos, B. Radin Biachi e P. Pereira. 2006. Déficit Hídrico e Produtividade na Cultura do Milho. *Pesq. Agropec. Bras.* 41(2):243-249.
- Bergonci, J. I., H. Bergamaschi, A. O. Santos, S. França e B. Radin. 2001. Eficiência da irrigação em rendimento de grãos e matéria seca de milho. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 36(7):949-956.
- Cabrera, S. 2005. Evolución del cultivo de maíz en Venezuela. **In:** Memorias XVII Curso sobre producción de maíz. Agosto 2005. INIA- ASOPORTUGUESA. Acarigua - Portuguesa. 26-27 pp.
- Cleber M., A., N. A. Streck, S. L. P. Medeiros, A. B. Heldwein e G. A. Buriol. 2006. Água no solo e rendimento do trigo, soja e milho associados ao El Niño Oscilação Sul. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 41(7):1 067-1 075.
- Colls, P. 2007. Distribución regional del valor agregado de la actividad agrícola. *Revista Foros*. Nº 13. IV Seminario Económico Regional. Publicación Especial de la Revista BCV. Disponible en: <http://www.bcv.org.ve/Upload/Publicaciones/rbcv132007.pdf>

- Corporación Andina de Fomento. 2000. Las Lecciones de El Niño. **In:** Memorias del fenómeno El Niño 1997-1998. Retos y propuestas para la región andina. Volumen IV Venezuela. Caracas.
- Dalvano, L. 2008. Propuesta para mejorar la seguridad alimentaria: incremento de la producción agrícola. Foro: La Alimentación Venezolana: Una Visión Conjunta de Futuro 2008-2018. CAVIDEA. XV Asamblea anual. http://www.cavidea.org/docs/asamblea2008/luigi_dalvano.pdf
- FEDEAGRO. 2007. Disponibilidad bruta de alimento. Unidad técnica. <http://www.fedeagro.org/consumo/cereales.asp>. Fecha 19 de marzo del 2012. Hora: 10:00 am.
- Foghin Pillin, S. 2002. Tiempo y clima en Venezuela. Aproximación a una geografía climática del territorio venezolano. Caracas: Universidad Pedagógica Experimental Libertador.
- Fontana, D. e M. Berlato. 1997. Influencia do El Niño/Oscilacao Sul sobre a Precipitacao Pluvial no Estado do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*. Santa Maria, 5(1):127-132.
- García, P. J., S. Cabrera, A. Pérez, R. Silva, R. Álvarez, C. Marín, P. Monasterio y M. Santella. 2009. Estabilidad del rendimiento y potencial agronómico de cultivares de maíz de Endospermo normal y QPM en zonas agroecológicas de Venezuela. *Agronomía Trop.* 59(4):433-443.
- Golden Gate Weather Services. 2007 El Niño and La Niña Years: A Consensus List. Disponible en: <http://ggweather.com/enso/years.htm>.
- Hargreaves, G. H. and Z. A. Samani. 1985. Reference Crop Evapotranspiration From Temperature. *Applied Eng. in Agric.* 1(2):96-99.
- InfoStat (2004). InfoStat, versión 2004. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas Argentina.
- Lafitte, H. R. 2000. El maíz en los trópicos. Mejoramiento para resistencia a los estreses abióticos. Enfoques del mejoramiento para desarrollar cultivares tolerantes al estrés. (En línea) <http://www.fao.org/docrep/003/X7650S/x7650s19.htm>. Fecha consultada: 21-10-2010.
- Lozada, B. 2002 Estudio de la influencia de los fenómenos El Niño y La Niña en la precipitación de la región centroccidental de Venezuela. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*. Santa Maria, 10(2):317-322.
- Lozada, B. y P. Sentelhas. 2003. Relaciones entre deficiencias y excedentes hídricos estimados a partir de los balances hídricos normal y secuencial. *BIOAGRO*. 15(3):209-216.
- Magaña, V. y J. Vázquez. 2001. Sobre los usos del pronóstico de El Niño en América Latina y el Caribe. *EIRD Informa-América Latina y El Caribe*. (En línea) http://www.eird.org/esp/revista/Nº2_2001/pagina8.htm.
- Martínez, R., A. Millena y P. Escalona. 2005. Correlación entre la evaporación en Tina y la evapotranspiración de referencia en cinco estaciones climatológicas de Venezuela. *UCLA. BIOAGRO* 17(2):79-83.
- Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales. 2005. Programa de las naciones unidas para el desarrollo y fondo mundial para el medio ambiente. Primera comunicación nacional en cambio climático de Venezuela. http://www.marn.gov.ve/marn/images/acrobat/PCN-DOCUMENTO_1572.pdf.
- Monasterio, P., P. García, G. Alejos, A. Pérez, J. Tablante, W. Masuret y L. Rodríguez. 2007. Relación entre el rendimiento de maíz y la precipitación en los ensayos regionales de híbridos blancos en el estado Yaracuy. *Revista CENIAP - Hoy*. N° 14. Mayo - Agosto.
- Monasterio, P., P. García, G. Alejos, A. Pérez, J. Tablante, W. Masuret y L. Rodríguez. 2008. Influencia de la precipitación sobre el rendimiento del maíz: Caso híbridos blancos. *Agronomía Trop.* 58(1):69-72.
- Montgomery, D. 2006. Diseño y análisis de experimentos. 2ª edición. México: Limusa Wiley. 700 p.
- Morrison, D. F. 1967. *Multivariate Statistical Methods*. 2nd Ed., New York: McGraw-Hill Book Co. 338 p.
- Micucci F., G., M. A. Taboada y R. Gil. 2005. El agua en los sistemas extensivos II. Consumo y eficiencia de uso del agua de los cultivos. *Archivo Agronómico* N° 7. INPOFOS Cono Sur1, Cátedra de Fertilidad de Suelos, FAUBA2,INTA-Castelar.3. Disponible en: <http://www.ipni.net/ppiweb/ltams.nsf/87-cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/afa4335a402>

- 964d003256d050067aa15/\$FILE/F.Micucci-II.pdf. Consultado: 20/10/2010.
- Casa A., C. y G. G. Ovando. 2006. Influencia de episodios el niño-oscilación sur (ENOS) sobre la Precipitación y el rendimiento de maíz en la provincia de Córdoba, AGRICULTURA TÉCNICA (CHILE) 66(1):80-89 (ENERO-MARZO). Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072006000100009. Consultado: 01/10/2010.
- Norte, F., S. Simonelli y N. Heredia. 1997. Impacto del fenómeno ENOS en el régimen hidrometeorológico de Mendoza-Argentina. Disponible en: <http://www.unesco.org/phi/libros/enso/norte.pdf>
- Panel Intergubernamental en Cambio Climático. 2007. Cambio climático. Disponible en: http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/syr/ar4_syr_sp.pdf
- Pereyra, D., U. Bando y M. Natividad. 2004. Influencia de La Niña y El Niño sobre la precipitación de la ciudad de Villahermosa, Tabasco, México. Disponible en: <http://www.ujat.mx/publicaciones/uciencia/junio2004/NinayNino.pdf>
- Pierre, F. y M. Tirado. 2007. Influencia del ENOS sobre la precipitación en la cuenca del río Yacambú y la depresión de Quibor, estado Lara, Venezuela. *BIOAGRO*. 19(1):41-52.
- Reynolds, J. 1998. The Influence of La Niña on El Paso, TX Precipitation. Disponible en: <http://www.srh.noaa.gov/elp/papers/elp98-1.html>.
- Rome Gaspaldy, S. y J. Ronchail. 1999. La Pluviometría en el Perú durante las fases ENSO y LNSO. Disponible en: <http://www.unesco.org/phi/libros/enso/rome.pdf>.
- Ropelewsky, C. and M. Halpert. 1987. Global and Regional Scale Precipitation Patterns Associated with the El Niño/Southern Oscillation. *Mon. Wea. Rev.* 115:1 606-1 626.
- Soley, F. J. y E. Alfaro. 1999. Aplicación de análisis multivariado al campo de anomalías de precipitación en centroamérica. <http://www.imn.ac.cr/publicaciones/revista/1999/diciembre/3-Soley-Dic99.pdf>.
- Valentinuz, O. 2004. Maíz: Uniformidad de plantas y tolerancia al estrés. Instituto Nacional de tecnología agropecuaria (INTA). Rivaldia. 1439 (1033). Buenos Aires-Argentina. 13 p. Disponible en: http://www.inta.gov.ar/balcarce/noticias/inta_expone/AuditorioUbaldoGarcia/MaizTolerancia.pdf. Consultado en: 21-10-2010.
- Thorntwaite, C. W. y J. R. Mather. 1955. *The Water Balance*. Publication Climatology. Drexel Institute of Technology, New Jersey. 104 p.

CARACTERIZACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA MEDIANTE EL USO DE MARCADORES RAPDs, DE UN GRUPO DE GENOTIPOS NATIVOS Y COMERCIALES DE CARAOTA EN VENEZUELA

CHARACTERIZATION OF GENETIC VARIABILITY USING RAPDs MARKERS, IN A GROUP OF NATIVE AND COMMERCIAL GENOTYPES OF BEAN IN VENEZUELA

Margaret Gutiérrez Mulas* y Carmen Amalia Rincón A.*

*Investigadoras. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Maracay, estado Aragua. Venezuela.
Correo electrónico: mgutierrez@inia.gob.ve

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue caracterizar la variabilidad genética de la caraota, *Phaseolus vulgaris* L., en un grupo de genotipos nativos, colectados en sistemas de producción de pequeños agricultores y variedades comerciales del Banco de Germoplasma de leguminosas de grano del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), Venezuela; para ello, se utilizaron marcadores moleculares RAPDs, de los cuales resultaron útiles los primers o iniciadores de la serie M y Y (OPM16 y OPY17), por su eficiencia en la separación entre genotipos cultivados y nativos. Los primers OPM-16, OPY-07, OPY-03, OPY-04, OPM-20, OPA-07 y OPY-17 produjeron 47 fragmentos de amplificación reproducibles, permitiendo la clasificación de nativos y comerciales en seis grupos, y separando al testigo comercial y una línea mejorada de los demás genotipos evaluados. Los grupos resultan útiles a los fines de proponer un programa de mejora genética, incluyendo la ampliación de la base genética, para cultivares. Los de color negro, pudieron mejorarse a partir de cruzamientos de Tacarigua (grupo I) con los genotipos de 19 y 13 (grupo IV), distantes en 0,75 unidades ultramétricas (UUM). También se puede cruzar la línea mejorada 13 (grupo VI) con los genotipos 6 y 12 (grupo III) a 0,75 UUM. Además, es recomendable ensayar cruces con el genotipo 12, por haber presentado también un bajo índice de susceptibilidad a la sequía. Los genotipos de otros colores se pueden mejorar con el cruce del genotipo 10, rosado (grupo II) con el genotipo 2 de color blanco (grupo V), a 0,60 UUM.

Palabras Clave: *Phaseolus vulgaris* L.; genotipos nativos; RAPDs; variabilidad genética.

SUMMARY

To characterize the genetic variability of a group of native genotypes, collected from small farmers production systems and commercial varieties of the germplasm bank accessions at Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), Venezuela, RAPDs molecular markers were used. Primers of the series M and Y, (OPM16 and OPY17), were useful for their efficiency in the separation between cultivated and native genotypes. Primers OPM-16, OPY-07, OPY-03, OPY-04, OPM-20, OPA-07 and OPY-17 produced 47 reproducible amplification fragments classifying native and commercial genotypes into six groups, and separating the commercial control and one enhanced line from the other germplasm evaluated. Those groups are useful for the development of a breeding program, including broadening the genetic base of Venezuelan cultivars, to improve black beans cultivars, through crosses of Tacarigua, group I, with the black genotypes 19 and 13, which, in another experiment with water deficit assessment, reached arithmetic and geometric average yields far superior to both commercial controls and were classified in Group VI, located at 0.75 ultrametric units (UUM). Also, through crosses of the improved line 13, group VI, with black seed genotypes 6 and 12, both with high yields and classified in Group III, at 0.75 UUM. It is also advisable to make the crossing with genotype 12, characterized by a low drought susceptibility index. For breeding genotypes of non black seeds, it is advisable the crossing of pink seed genotype 10, group II, with the white seed genotype 2 classified in group V, at 0.60 UUM.

Key Words: *Phaseolus vulgaris* L.; landraces; RAPDs; genetic variability.

RECIBIDO: octubre 22, 2010

INTRODUCCIÓN

La caraota, *Phaseolus vulgaris* L., es un cultivo morfológicamente muy diverso; con importantes variaciones de hábito de crecimiento, colores de semilla y de vaina, así como en su fenología. Esta diversidad refleja el amplio rango de ambientes ecológicos y humanos en el cual se ha desarrollado.

Los materiales locales, conservados en el Banco de Germoplasma del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) en Venezuela, provienen de localidades muy diversas en cuanto a condiciones agroecológicas, observándose importantes variaciones morfológicas y fenológicas, de alta heredabilidad, que permiten una rápida discriminación fenotípica del germoplasma. Estos descriptores de las características morfológicas, así como los experimentos sobre el comportamiento agronómico, han sido la principal herramienta, utilizada hasta el presente, en la caracterización y evaluación de estos recursos genéticos.

Sin embargo, las técnicas moleculares, debido a su eficiencia y rapidez, han incrementado enormemente las posibilidades de descripción y por ende de utilización del germoplasma.

La mayor atracción de dichas técnicas es la posibilidad de obtener información acerca de la variabilidad del ADN, a partir de pequeñas cantidades de tejido vegetal, en cualquier estado de desarrollo. Se considera que las mismas son viables para detectar la diversidad genética con mayor precisión que las caracterizaciones tradicionales (Berthaud, 1997) y que los marcadores moleculares son menos influenciados por el ambiente (Lowe *et al.*, 1996).

Según Williams *et al.* (1990), en el caso del RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) se amplifican pequeñas secuencias aleatorias en el ADN usando iniciadores arbitrarios, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (por sus siglas en inglés, PCR). Este método es simple y efectivo al revelar polimorfismo, también es relativamente económico, universalmente aplicable y ha sido extensivamente aplicado para la caracterización de la diversidad genética, la estimación de las similitudes y distancias genéticas, la identificación y clasificación y para los estudios de población (Ferreira *et al.*, 2003).

Es bien conocido que la base de cualquier programa de mejoramiento es la existencia de la variabilidad genética deseable, sin la cual no se podría lograr progreso

alguno. La caraota es una especie autógama ($2n=22$) por lo que todos los cultivares comerciales son líneas puras o mezclas de líneas. La mayor diversidad genética en cuanto a los tipos de semilla pequeña se encuentra en las accesiones de América Central, México, Venezuela y Brasil; por su parte, la mayor variabilidad genética en los tipos de semilla mediana y grande, se encuentra en las entradas de las tierras altas de México, los Andes, África Central y Oriental, Europa y países del occidente Asiático (Singh *et al.*, 1991a; 1991b).

La base genética de los cultivares comerciales de caraota utilizados en Venezuela es bastante estrecha, por lo que la variabilidad genética presente en los Bancos de Germoplasma es limitada. En este sentido, se considera de importancia primordial el rescate de las variedades locales y materiales nativos, con el fin de preservar la diversidad y hacer uso de estos acervos genéticos en la ampliación de la base genética de los cultivares comerciales, así como en la búsqueda de alternativas para los sistemas de producción actualmente en uso.

Los marcadores moleculares son una importante herramienta para estudiar los patrones de domesticación del género *Phaseolus* y de muchos otros géneros (Debouck *et al.*, 1993). El desarrollo de técnicas para manipular y analizar el ADN ha sido muy veloz en los últimos años y el frijol común (caraota) es un buen candidato para aplicar estas estrategias, ya que su genoma es relativamente pequeño (0,65 pb/genoma haploide). Uno de los retos en el éxito de estas técnicas es la obtención de una alta calidad de ADN de alto peso molecular (Sánchez *et al.*, 1995).

En un estudio sobre la diversidad en caraota, Singh *et al.* (1991b) demuestran que los análisis moleculares, junto con evaluaciones morfológicas y agronómicas, proveen información complementaria e incrementan el poder de resolución de los análisis de diversidad genética. Estos autores, luego de realizar la caracterización morfológica y agronómica de 306 tipos o razas nativas de Latinoamérica, analizaron sus relaciones con la proteína faseolina y la diversidad de aloenzimas, lo que permitió separar a los grupos Mesoamericano y Andino.

Los marcadores RAPDs se fundamentan en la amplificación de secuencias aleatorias de ADN, usando iniciadores arbitrarios en la PCR (Williams *et al.*, 1990). Las ventajas de esta técnica son la simplicidad, rapidez y el requerimiento de sólo pequeñas cantidades de ADN genómico (Welsh y McClelland, 1990; Freyre *et al.*, 1996).

Esta técnica molecular se utilizó con mucho éxito en la determinación de la estructura genética del género *Phaseolus*; desde el estudio sobre los centros de origen y de diversidad (Kaplan, 1965; Beebe *et al.*, 1995; Beebe *et al.*, 2000; Beebe *et al.*, 2001) hasta el conocimiento de la variabilidad entre tipos comerciales o líneas mejoradas (Métais *et al.*, 2000; Constabel *et al.*, 1996; Karp A., 2002.).

De manera que los marcadores RAPD se utilizaron en estudios de diversidad a diferentes niveles taxonómicos, desde comparación de genomas entre especies (Quirós *et al.*, 1991), de genotipos de una especie o género (Fofana *et al.*, 1997; Freyre *et al.*, 1996; Vekemans *et al.*, 1998; Koenig *et al.*, 1990; Koinange *et al.*, 1996) y aun para estudiar la diversidad entre cultivares dentro de un cultivo (Yang y Quirós, 1993; Mailer *et al.*, 1994).

Algunos trabajos sirven como base a los argumentos actuales sobre el origen de la caraota, teniendo a *Phaseolus aborigineus* como ancestro silvestre, cuyo proceso de domesticación se conoce que tuvo lugar en el Centro y Sur de América. De hecho, las muestras se han colectado en Venezuela, y existen excicatas en Herbarios Nacionales, tal como, el Herbario del Jardín Botánico de la Universidad Central de Venezuela.

Por otra parte, en 1966 se reportó que en las montañas de Mérida se utilizaba esta especie como alimento por parte de las familias más pobres, costumbre que también era común en Pamplona, Colombia (Brucher y Brucher, 1976).

Jaffé y Karl (1959) y Jaffé y Brucher (1968), realizaron comparaciones del contenido de fitohemaglutinina entre la caraota y *P. aborigineus* colectados en los andes venezolanos, para establecer relaciones taxonómicas entre estas dos especies.

Freyre *et al.* (1996), utilizando análisis de faseolina y marcadores bioquímicos y moleculares (isoenzimas y RFLP), pudieron distinguir dos grupos de *Phaseolus* procedentes de Bolivia; uno Andino y otro Mesoamericano; también identificaron un tercer grupo intermedio que se encuentra en el noroeste de Sur América.

Además, determinaron las relaciones genéticas de materiales silvestres de caraota, utilizando RAPDs, y correlacionaron la información obtenida a través del uso de esta técnica con el origen geográfico de los materiales y con información de previas caracterizaciones bioquímicas y moleculares.

Esta correlación resultó muy alta y además aseguran que el análisis permite obtener un gran número de bandas, logrando una mayor sensibilidad para la identificación de sub-grupos geográficos y materiales de origen híbrido.

Los marcadores RAPDs mostraron variabilidad entre y dentro los dos principales pools genéticos (Andino y Mesoamericano) (Haley *et al.*, 1994; Mitrick *et al.*, 1995). Esto fue también probado con material genético proveniente de Chile (Mitrick *et al.*, 1995) y de Bolivia (Freyre *et al.*, 1996).

En décadas recientes, se ha asignado especial énfasis a la constitución y mantenimiento de colecciones de germoplasma muy grandes en el caso de cultivos de importancia. Sin embargo, la evaluación de éstas, solo es factible si se cuenta con características discriminantes sencillas. Se conoce que los investigadores en mejoramiento de plantas requieren de evaluaciones repetidas en campo, por lo que las colecciones deben ser muestreadas, bien sea al azar o bajo algún criterio preestablecido, en respuesta a la necesidad de una evaluación efectiva de tan grandes colecciones, para lo que se han propuesto las "core collections" (o colecciones centrales), las cuales incorporan una muestra representativa de la variabilidad presente del cultivo con un mínimo de redundancia.

También, Beebe *et al.* (2000) analizaron una colección de 269 tipos locales o landraces de caraota, mediante un análisis de correspondencia de marcadores RAPDs, para determinar la estructura genética del acervo genético del grupo Mesoamericano del que proviene 60% de los cultivares comerciales utilizados en el mundo. Con el uso de esta técnica molecular, los autores pudieron profundizar en el conocimiento de las relaciones genéticas entre y dentro de las tres razas del pool Mesoamericano (Mesoamérica, Durango y Jalisco).

Además, determinaron que numeroso del germoplasma cumple con la descripción de las tres razas, el grupo Mesoamericano es más complejo, especialmente las regiones que incluyen Guatemala y los estados de Oaxaca y Chiapas en México, donde se encuentra una importante diversidad genética que aún no ha sido apropiadamente estudiada. Por otra parte, en el eje volcánico del este de México puede haber una fuente de variabilidad que no ha sido explotada.

Beebe *et al.* (2001) realizaron posteriormente un estudio con tipos locales o landraces del pool Andino, tomando una submuestra de la colección del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); en este caso, se demostró

que la base genética del grupo Andino, conservado en el banco, es bastante estrecha en contraste con el grupo Mesoamericano.

Si bien las razas de Nueva Granada, Perú y Chile del pool Andino se conformaron con base en características morfológicas y de adaptación, las técnicas moleculares demostraron que estas tienen un origen común, por lo que se infiere que las diferencias entre ellas son el resultado de la intensiva selección humana, especialmente para ciertos caracteres como color y tamaño de la semilla.

En otro trabajo se ha realizado el análisis de la diversidad genética entre germoplasma mejorado o líneas comerciales a través de perfiles RAPDs que permitieron diferenciar 24 líneas comerciales con siete primers (Métais *et al.*, 2000).

Muchos ensayos se realizan para identificar marcadores RAPDs asociados a loci de características cuantitativas (siglas en inglés, QTL; Lowe *et al.*, 1996), relacionadas a resistencias a enfermedades en caraota como el moho blanco, *Sclerotinia* sp. (Park *et al.*, 2001; Miklas *et al.*, 2001; Faleiro *et al.*, 2000), *Fusarium* (Fall *et al.*, 2001), mancha angular, *Phaeoisariopsis griseola* (Ferreira *et al.*, 2000), anthracnosis, *Colletotrichum lindemuthianum* (Adam-Blondon *et al.*, 1999), bacteriosis (Constabel *et al.*, 1996), mancha Blanca (Milkas *et al.*, 2001) y otras.

En la literatura no se encuentra coincidencia en cuanto a los primers más adecuados para los estudios en el género *Phaseolus*. Se puede destacar la utilización de los primers OPA-06, OPA-08, OPA-10, OPA-20, OPC-19, OPD-08, OPD-12, OPE-08, OPE-15, OPE-16, OPE-19 y OPE-20 para clasificar materiales nativos y los primers OPA-02, OPA-03, OPA-08, OPA-12, OPC-19, OPD-01, OPD-05, OPD-12, OPD-16 y OPE-08 en el estudio de materiales cultivados de caraota llevado a cabo por Fofana *et al.* (1998).

En estudios sobre la domesticación del género se han utilizado los primers Operon C08, H12, H18, H20, I06, J09, N06, N12, M10, U10, U15, W20 (Skroch *et al.* 1998) y B10, F10, G03, G05, I16, I06, I07, L04, M12, O13, O15, O16, P01, P09, Q09, Q14, R04, R09, T07, U01, U19, W02, W06, W07, W09, X01 y X11 (Skroch *et al.*, 1998; Nowosielski *et al.*, 2002).

La presente investigación facilitará los trabajos de mejoramiento genético, al incrementar la disponibilidad de germoplasma de diversos acervos genéticos debidamente caracterizados y evaluados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con un grupo de genotipos conformado por un total de 22 materiales, de los cuales 19 provienen de diversas localidades del país que fueron introducidos al Banco de Germoplasma del INIA-CENIAP (Cuadro 1). Una línea de mejoramiento donada por el investigador Alberto Salih (línea experimental 13) y dos cultivares comerciales utilizados como testigos (Tacarigua y Montalbán). Estos materiales fueron previamente evaluados en campo para determinar su tolerancia al déficit hídrico (Gutiérrez, 2009).

Siembra de los materiales

Se sembraron todos los materiales en bolsas negras y fueron ubicados en el cobertizo del edificio 08, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) del INIA, Maracay, estado Aragua, a los fines de cosechar el segundo par de hojas verdaderas, totalmente expandidas.

Extracción del ADN

Para la extracción del ADN, se seleccionó tejido fresco de hojas sanas sin pecíolo. Se aisló el ADN, siguiendo el protocolo propuesto por Zambrano *et al.* (2002).

Reacción de amplificación

La mezcla de reacción se efectuó en un volumen final de 25 µl, y estuvo compuesta por Taq polimerasa 1U, Buffer B 1X, Cloruro de magnesio (2,5 mM), DNTPs 1.2 mM, primers 0,2 mM (Cuadro 2), BSA (0,01 g ml⁻¹) y agua destilada hasta completar el volumen deseado.

Ciclos PCR

Los ciclos PCR se efectuaron en un termociclador modelo Gene E (THECHNE). El programa de amplificación seleccionado consistió en los siguientes perfiles de temperatura: 95 °C por 2,5 min, cuatro ciclos cada uno con un segmento de desnaturalización a 94 °C por 1 min, uno de "anilling" o "pegue" a 62 °C por 1 min y uno de extensión a 65 °C por 10 min, seguido de 26 ciclos de desnaturalización, cada uno por 30 seg a 95 °C, 1 min a 62 °C de anilling y dos ciclos seguidos de extensión de 10 min y 65° C, cada uno. Los productos de amplificación fueron analizados por electroforesis en un gel de agarosa 1%, usando el buffer Tris-borato teñido con bromuro de Etidio y escaneados y grabados con el programa Quantity One.

CUADRO 1. Procedencia de los 22 cultivares incluidos en el experimento.

N°	Nombre vulgar	Procedencia	Estado	Altura m.s.n.m.	Latitud	Longitud	Donante
1	Caraota negra	Mercado de Carúpano	Sucre	15	10°39'57"	63°14'59"	Rosa Elena Brazón
2	La poncha	Río Cocollar	Monagas	673	10°09'00"	63°14'59"	Juan Suárez
3	Caraota roja	Las Delicias de Río Cocollar	Monagas	673	10°09'00"	63°14'59"	Inés Duarte
4	Caraota negra	La Horqueta	Sucre	573	10°22'00"	63°14'59"	Vicenta García Figueroa
5	Tocoquita negra	Santa María, municipio Cariaco	Sucre	925	10°17'00"	63°14'59"	José Ramón Cova
6	Caraota de bejuco	Altamira de Cáceres	Barinas	833	08°49'22"	63°14'59"	José Gerónimo Rivas
7	Caraota negra	El Caney de Pueblo Llano	Mérida	1 628	08°53'23"	63°14'59"	Elis Vergara
8	De picar	Los Tendales de Mutús	Mérida	2 433	08°55'14"	63°14'59"	Ana Julia Alarcón
9	Roja pintada cuarentana	San José de Acequias	Mérida	1 148	08°24'19"	63°14'59"	Agricultores pueblos del Sur
10	Caraota rosada	Pueblo Nuevo	Mérida	1 477	08°27'25"	63°14'59"	Agricultores pueblos del Sur
11	Poncha	Quibor, municipio Jiménez	Lara	550	09°54'54"	63°14'59"	Marco Escalona
12	Caraota negra	Eneal Sogarito	Lara	436	09°45'04"	63°14'59"	Evarista Cordero
13	Plomito	Palo Verde, Sanare	Lara	345	09°46'06"	63°14'59"	Remingo A. Torres
14	Rayada	Palo Verde, Sanare	Lara	357	09°46'06"	63°14'59"	Remigio A. Torres
15	Rayada	Miracuy, municipio Andrés Eloy	Lara	776	09°38'51"	63°14'59"	Hipólito Gutiérrez
16	Caraota negra criolla	Mercado principal de Maracay	Aragua	446	10°17'57"	63°14'59"	Vendedor
17	Vaina blanca	Santa Rosa del Sur, La Villa	Carabobo	1 200	09°57'24"	63°14'59"	Finca Uvitas
18	Guaimara o guaimarito vaina Blanca	Bajo de Guanape	Miranda	1 455	09°56'21"	63°14'59"	Material local
19	Caraota negra de macaira	San Rafael de Orituco	Guárico	60	09°49'21"	63°14'59"	Bodega San Rafael de Orituco
20	Línea experimental 13	Línea mejorada INIA	Aragua	455	10°17'57"	63°14'59"	Mejorador Alberto Salih INIA
21	Tacarigua	Variedad comercial	Aragua	455	10°17'57"	63°14'59"	Mejorador Simón Ortega INIA
22	Montalbán	Variedad comercial	Aragua	455	10°17'57"	63°14'59"	Mejorador Simón Ortega INIA

CUADRO 2. Primers utilizados para la caracterización.

Primers	Secuencia
OP M16	5'-GTAACCAGCC-3'
OP Y07	5'-AGAGCCGTCA-3'
OP Y04	5'-GGCTGCAATG-3'
OP M20	5'-AGGTCTTGGG-3'
OP A07	5'-GAAACGGGTG-3'
OP Y17	5'-GACGTGGTGA-3'

Análisis estadístico de los resultados de la caracterización molecular

Se utilizó el coeficiente de asociación de Dice (1945). Los coeficientes de asociación se obtienen a partir de caracteres binarios, codificados como "1" y "0". Esta nomenclatura es utilizada para expresar la presencia versus la ausencia de una banda.

Las posibles combinaciones se observan en el Cuadro 3.

CUADRO 3. Matriz de asociación de Dice (1945).

		UBJ			
UBK	1	0			
	0	A	B	a+b	
		C	D	c+d	
		a+c	b+d	n=a+b+c+d	

En el caso del coeficiente de Dice (1945), el cálculo otorga el doble de importancia a los apareamientos positivos (a) que a los negativos (d) ya que se calcula de la manera siguiente:

$$Sd = 2a / (2a + b + c)$$

Una vez obtenidos los patrones de fragmentos de amplificación, la información se organizó por presencia (1) y ausencia de bandas (0), lo cual permite obtener la matriz básica binaria.

Para identificar el agrupamiento natural de las entradas, se preparan diferentes combinaciones de coeficientes de similitud y/o distancias bajo distintos métodos de agrupamiento, utilizando la prueba de Mantel o el Coeficiente de Correlación Cofenética como criterio para seleccionar uno de los agrupamientos probados por coeficiente de similitud.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó el análisis para el conjunto de los iniciadores haciendo uso del programa estadístico WinStat, del cual se utilizó la salida de los dendogramas de clasificación, a los fines de la presentación de este trabajo.

El uso de los iniciadores OPM-16, OPY-07, OPY-04, OPM-20, OPA-07, OPY-17 produjo un total de 47 fragmentos de amplificación reproducible, siendo el OPA-07 y el OPY-17 los que generaron el mayor número de fragmentos polimórficos, con un total de ocho.

En la Figura 1 se observa la prueba de amplificación de genotipos con los diversos primers probados.

El contenido de la información polimórfica promedio fue 0,244 +/- 0,009 con valores mínimos de 0,1428 y máximos de 0,968. La Figura 2 muestra el dendograma con las relaciones genéticas entre los materiales nativos y cultivados estudiados, utilizando el criterio de agregación UPGMA y coeficiente de similitud de Dice.

El análisis de los datos permitió la conformación de seis grupos de materiales, haciendo el corte del árbol a 0,5 unidades ultra métricas (UUM).

En el grupo I se ubicó el cultivar Tacarigua, que es la variedad comercial mejorada por el INIA y sembrada en mayor proporción por los agricultores en el país. Resulta interesante que el análisis permitió separar a este del resto de los materiales colectados en Venezuela, dado que se puede inferir que los tipos locales conservados por los agricultores son genéticamente diferentes al testigo comercial, razón que justifica la colecta y conservación como parte de las estrategias a seguir para la ampliación de la base genética de los cultivares comerciales venezolanos.

El grupo II, también conformado por un solo cultivar, permitió separar al único individuo proveniente del estado Mérida (genotipo 10), de color rosado.

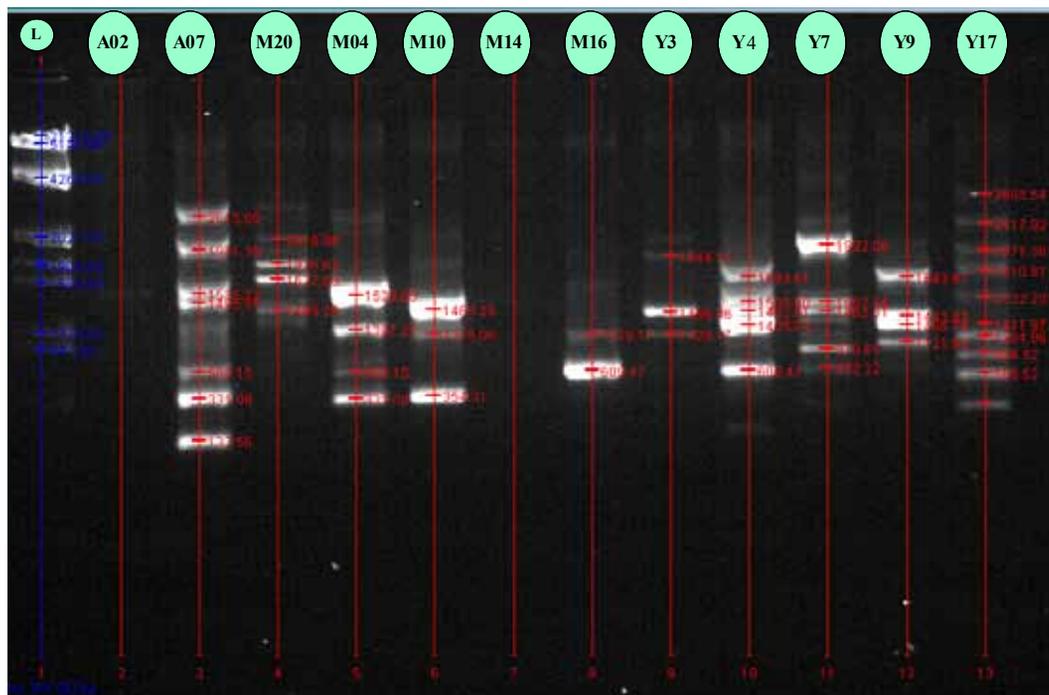


FIGURA 1. Prueba de 12 iniciadores, genotipo 12 a.

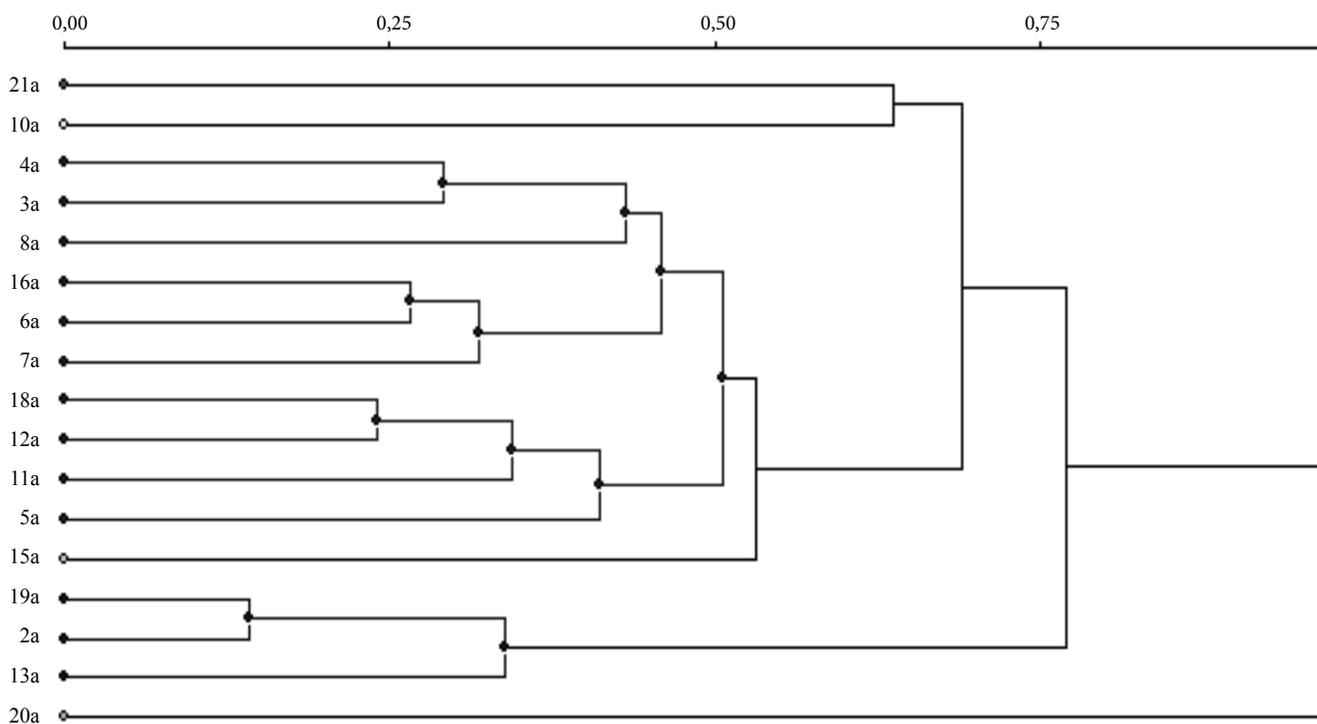


FIGURA 2. Clasificación jerárquica ascendente de materiales nativos y comerciales de caraota con base a la técnica RAPD utilizando los iniciadores: OPM-16, OPY-07, OPY-04, OPM-20, OPA-07 y OPY-17.

Cabe destacar, que este material rosado es de gran tamaño, típicamente consumido en los andes Venezolanos y parece pertenecer al acervo genético del grupo Andino, si se toman en cuenta las características distintivas de estos tipos (Haley *et al.*, 1994; Mitrick *et al.*, 1995).

El grupo III está conformado por 10 materiales provenientes de diversas zonas y en su mayoría de color negro y tamaño pequeño, la caraota típica consumida en todo el territorio. Sin embargo, en este grupo existe un material (genotipo 3) que es de color rojo, procedente del estado Monagas, el cual no coincide en sus características morfológicas con el resto del grupo.

El grupo IV solo incluye un material originario del estado Lara (genotipo 15), que se caracteriza, a diferencia del resto de los materiales evaluados en el presente estudio, por ser de grano rayado.

El grupo V compuesto por los materiales 19, 13 y 2, de las cuales dos son negras y una blanca, de los estados Guárico, Lara y Monagas, respectivamente. En el caso de este grupo se puede mencionar que morfológicamente coinciden sólo en que son de pequeño tamaño de grano.

En el VI y último grupo, resulta interesante que solo se encuentra la línea mejorada por el investigador Alberto Salih del INIA-CENIAP (Línea experimental N° 13). Este material identificado como 20, se ubica en el extremo opuesto (la mayor distancia encontrada en el estudio) del testigo comercial Tacarigua. Este resultado permite inferir que el material es genéticamente distante del utilizado comercialmente en la actualidad, lo cual representa una importante ventaja para su selección como alternativa a los sistemas de producción, lográndose entre otras cosas disminuir la vulnerabilidad ante condiciones adversas de los materiales en el mercado, que son de conocida estrecha base genética (Voystest, 2000).

Sobre la base de la conformación de estos grupos se propone una alternativa para mejorar cultivares de color negro a partir de cruzamientos de la variedad Tacarigua, ubicada en el grupo I, con los genotipos de color negro 19 y 13. Éstos, también alcanzaron rendimientos medios aritméticos y geométricos muy superiores a ambos testigos comerciales (Gutiérrez, 2009) y se clasificaron en el grupo V, ubicado a una distancia genética cercana a 0,75 UUM del grupo I.

Asimismo, se podría cruzar al genotipo 20, línea mejorada 13, clasificado en el grupo VI, con los genotipos negros 6 y 12, ambos con altos rendimientos (Gutiérrez, 2009) y clasificados en el grupo

III, distante en 0,75 UUM del grupo VI. Si el objetivo estuviese centrado en comportamiento superior ante condiciones de déficit hídrico, es recomendable hacer el cruce con el genotipo 12, por haber presentado un bajo índice de susceptibilidad a la sequía.

En el caso de un programa de mejora de genotipos de color, se recomienda el cruce del genotipo 10 de color rosado y ubicado en el grupo II con el genotipo 2 de color blanco clasificado en el grupo V. En este caso la distancia genética de los grupos II y V es cercana a las 0,60 UUM.

CONCLUSIONES

- Se puede proponer un trabajo de mejora genética, teniendo como base los seis grupos conformados, incluyendo la ampliación de la base genética de los cultivares estudiados.
- La conformación de los seis grupos mediante este análisis resulta de mucha utilidad a los fines de proponer un trabajo de mejora genética que incluya la ampliación de la base genética de los cultivares.
- Se considera adecuado mejorar cultivares de color negro, partiendo del cruzamiento de Tacarigua con los genotipos de color negro 19 y 13; así como cruzar la línea mejorada 13 con los genotipos negros 6 y 12.
- Para la mejora de genotipos de color se recomienda el cruce del genotipo 10 (rosado) con el genotipo 2 (de color blanco).
- Se estima conveniente que se generen poblaciones mejoradas a partir del cruzamiento de genotipos genéticamente distantes de acuerdo a esta clasificación.

BIBLIOGRAFÍA

- Adam-Blondon, A. F., M. Seignac, M. Dron and H. Bannerot. 1999. A genetic map of common bean to localize specific resistance genes against anthracnose. Plant genome II Conference "International Plant Genome Conference". Thematic items Fifth PHASELIEU Workshop. Town & Country Conference Center, San Diego, CA. Genome 37:915-924
- Beebe, S. E., I. Ochoa, P. Skroch, J. Nienhuis and J. Tivang. 1995. Genetic Diversity among common

- bean breeding lines developed for Central América. *Crop Sci.* 35(5):1 178-1 183.
- Beebe, S., P. W. Skroch, J. Thome, M. C. Duque, F. Pedraza and J. Nienhuis. 2000. Structure of genetic diversity among common bean landraces of middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. *Crop Sci.*, 40(1):264-273.
- Beebe, S., J. Rengifo, E. Gaitan, M. C. Duque and J. Thome. 2001. Diversity and Origin of Andean Landraces of Common Bean. *Crop Science*. 41:854-862.
- Berthaud, J. 1997. Strategies for conservation of genetic resources in relation with their utilization. *Euphytica*. 96:1-12.
- Brucher, O. B. and H. Brucher. 1976. The South American wild bean (*Phaseolus aborigeus* Burk.) as ancestor of the common bean. *Economic Botany*. 30(3):257-272.
- Constabel, E. C., T. E. Michaels, P. H. Goodwin, J. E. Mayer and M. A. Pastor. 1996. Evaluation of a DNA probe for the quantitative detection of common bacterial blight in common bean and its application in a verdín program. *Euphytica*. 90:129-135.
- Debouck, D. G., O. Toro, O. M. Paredes, W. C. Johnson and P. Gepts. 1993. Genetic diversity and ecological distribution of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in northwestern South America. *Economic Botany*, 47(4):408-423.
- Dice, L. R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*. 26:297-302.
- Faleiro, F. G., W. S. Vinhadelli, V. A. Ragagnin, R. X. Correa, M. A. Moreira and E. G. de Barros. 2000. RAPD markers linked to a block of genes conferring rust resistance to the common bean. *Genet. Mol. Biol.* 23(2):399-402.
- Fall, A. L., P. F. Byrne, G. Jung, D. P. Coyne, M. A. Brick and H. F. Schwartz. 2001. Detection and mapping of a major locus for *Fusarium* wilt resistance in common bean. *Crop Science*, 41:1494-1498.
- Ferreira da Silva, G., J. B. dos Santos and M. A. Patto. 2003. Identification of SSR and RAPD markers linked to a resistance allele for angular leaf spot in the common bean (*Phaseolus vulgaris*) line ESAL 550. *Genetics and Molecular Biology*. 26(4):459-463.
- Ferreira, C. F., A. Borém, G. A. Carvalho, S. Nietsche, T. J. Paula Jr., E. G. Barros and M. A. Moreira. 2000. Inheritance of angular leaf spot resistance in common bean and identification of a RAPD marker linked to a resistance gene. *Crop Science*. 40:1 130-1 133.
- Fofana, B. J. P., J. P. Baudion and P. du Jardin. 1998. Molecular phylogeny in the genus *Phaseolus*. 3rd European Conference on Grain Legumes. Opportunities for high quality, healthy and added-value crops to meet European demands. Valladolid, España. 214-215 pp.
- Fofana, B., X. Vekemans, P. du Jardin and J. P. Baudion. 1997. Genetic Diversity in Lima Bean (*Phaseolus lunatus*) as revealed by RAPD markers. *Euphytica*, 95:157-165.
- Freyre, R., R. Rios; L. Guzman, D. G. Debouck and P. Gepts. 1996. Ecogeographic distribution of *Phaseolus* spp. (Fabaceae) in Bolivia. *Economic Botany*. 50(2):195-216.
- Gutiérrez, M. 2009. Caracterización ecofisiológica y molecular de materiales locales de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) colectados en Venezuela, ante condiciones de déficit hídrico. Tesis de grado para optar al título de Doctora en Ciencias Agrícolas. Universidad Central de Venezuela. 69 p.
- Haley, S. D., P. N. Miklas, L. Afanador and J. D. Kelly. 1994. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker variability between and within gene pools of common bean. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119:122-125.
- Jaffé, W. G. and G. Karl. 1959. Purification of a toxic phytohaemagglutinin from Black Beans (*Phaseolus vulgaris*). *Nature*. 183:1 329-1 330.
- Jaffé, W. G. and K. Hannig. 1965. Fractionation of proteins from kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). *Arch. Biochem. Biophys.* 109:80-91.
- Jaffé, W. G. y O. Brucher. 1968. La Presencia de fitohemaglutinina en *Phaseolus aborigineus* (Burk) y su identidad con la de *Phaseolus vulgaris* L. como argumento quimiotaxonómico de la íntima relación de estas dos especies. *Rev. Acta Científica Venezolana*. 19:20.

- Karp, A. 2002. The new genetic era: will it help us in managing genetic diversity. In managing plant genetic diversity. Edited by J. M. M. Engels, V. Ramana Rao, A. H. D. Brown and M. T. Jackson. CABI Publishing. 487 p.
- Kaplan, L. 1965. Archeology and domestication in American *Phaseolus* (Bean). *Econ. Bot.* (19):358-368.
- Koenig, R. L., S. P. Singh and P. Gepts. 1990. Novel Phaseolin Types in wild and cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economic Botany*, 44(1):50-60.
- Koinange, E. M., S. Singh and P. Gepts. 1996. Genetics control of the domestication syndrome in common bean. *Crop Sci*, 36:1 037-1 045.
- Lowe, A. J., O. Hanotte and L. Guarino. 1996. Standardization of molecular genetic techniques for the characterization of germplasm collections: the case of random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Plant Genetic Resources Newsletter*, 107:50-54.
- Mailer, R. D., R. Scarth and B. Fristensky. 1994. Discrimination among cultivars of rapeseed (*Brassica napus*) using DNA polymorphisms amplified from arbitrary primers. *Theoretical and Applied Genetics*, 87:697-704.
- Métias, I., C. Aubry, B. Hamon, R. Jalouzot and D. Peltier. 2000. Description and analysis of genetic diversity between commercial bean lines (*Phaseolus vulgaris*). *Theoretical and Applied Genetics*, 101(8):1 207-1 214.
- Miklas, P. N., W. C. Johnson and R. Delorme and P. Gepts. 2001. QTL Conditioning Physiological Resistance and Avoidance to White Mold in Dry Bean. *Science*. 41:309-315.
- Mitrick, J. A., J. Nienhuis, P. Hinrichsen and C. Muñoz. 1995. RAPID Analysis of *Phaseolus vulgaris* landrace from Chile. Department of Biological Science Northern Illinois University De Kalb, Department of Horticulture, University of Wisconsin, Madison, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile, Plant Genome III, January 1995.
- Nowosielski, J., W. Podyma and D. Nowosielska. 2002. Molecular research on the genetic diversity of Polish varieties and landraces of *Phaseolus coccineus* L. and *Phaseolus vulgaris* L. using the RAPD and AFLP methods. *Cell Mol Biol Lett*, 7(2B):753-762.
- Park, Soon O., D. P. Coyne, J. R. Steadman and P. W. Skroch. 2001. Mapping of QTL for Resistance Mold Disease in Common Bean. *Crop Science*, 41:1 253-1 262.
- Quirós, C. F., J. Hu, P. This, A. M. Chevre and M. Del-seny. 1991. Development and chromosomal localization of genome-specific markers by the polymerase chain reaction. *Theoretical and Applied Genetics*, 82:627-632.
- Sánchez, M., S. Hernández, P. Guzman and J. Simpson. 1995. A simple protocol for the isolation of High Molecular Weight DNA Molecular from Common Bean (*P. vulgaris*). Department of Genetic Engineering. Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados (CINVESTAV), Unidad Irapuato Apdo Postal 629, Irapuato México.
- Sing, S. P., P. Gepts and D. G. Debouck. 1991a. Races of Common Bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economy Botanic*, 45(3):79-396.
- Sing, S. P., J. A. Gutiérrez, A. Molina, C. Urrea and P. Gepts. 1991b. Genetic Diversity in Common Bean: II. Marked-Based Analysis of Morphological and Agronomics Traits. *Crop Sciece*, 31:23-29.
- Skroch Paul, W., J. Nienhuis, S. Beebe, J. Thome and F. Pedraza. 1998. Comparison of Mexican Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Core and Reserve Germplasm Collections. *Crop Science*, 38:488-496.
- Vekemans, X., O. Hardy, B. Berken, B. Fofana and J. Baudoin. 1998. Use of PCR-RFLP on chloroplast DNA to investigate phylogenetic reationships in the genus *Phaseolus*. *Biotechnologie, Agronomie Societe et Environnement*. 2(2):128-134.
- Voysest, O. 2000. Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Legado de variedades de América Latina 1930-1999. Centro Internacional de Agricultura Trop. Cali Colombia. 195 p.
- Welsh, J. and M. McClelland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, 18(24):7 213-7 218
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22):6 531-6 535.

Yang, X. and C. Quiros. 1993. Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 86:205-212.

Zambrano, A. Y., J. R. Demey, G. Martínez, F. Fuenmayor, Z. Gutiérrez, G. Saldaña y M. Torrealba. 2002. Método rápido, económico y confiable de mini preparación de ADN para amplificaciones por Rapd en bancos de germoplasma. *Agronomía Trop.*, 52(2):235-243.

TRABAJO ESPECIAL

ESTRATEGIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA LA CONSERVACIÓN DE GERMOPLASMA EN EL INIA-CENIAP VENEZUELA. CASO YUCA Y MUSÁCEAS

BIOTECHNOLOGICAL STRATEGIES FOR GERMOPLASM CONSERVATION IN THE INIA-CENIAP, VENEZUELA. CASE: CASSAVA AND MUSA

José G. Albarrán*, Francia Fuenmayor*, Morela Fuchs*, Gustavo Martínez*, Adrián Rodríguez**, Edward Manzanilla**, Ezequiel Díaz**, Rommel León** y María Torrealba***

*Investigador, **Técnicos Asociados a la Investigación y ***Asistente Agropecuario. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP). Maracay, estado Aragua, Venezuela.

Correo electrónico: jgalbarran@inia.gov.ve, ffuenmayor@inia.gov.ve, mfuchs@inia.gov.ve, gmartinez@inia.gov.ve

RESUMEN

El Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) de Venezuela tiene entre sus objetivos la conservación y utilización de los recursos fitogenéticos de interés agrícola. En este trabajo se presentan resultados de las experiencias en conservación *ex situ* que se han llevado a cabo en los Bancos de Germoplasma de yuca, *Manihot esculenta* Crantz y musáceas, *Musa* sp., en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), específicamente en la conservación *in vitro* de 82 clones de yuca, dulces y amargos, y 99 de musáceas. En el caso de la yuca el proceso de conservación comienza con la regeneración de plantas a partir de cultivo de meristemas, cultivándose en un medio de cultivo denominado MY que contiene: sales minerales de Murashige y Skoog (MS), sacarosa 20 g l⁻¹, bencilaminopurina (BAP) 0,05 mg l⁻¹, ácido giberélico (AG₃) 0,05 mg l⁻¹, ácido naftalen-acético (ANA) 0,02 mg l⁻¹, hidrolizado de caseína 0,1 g l⁻¹, pH 5,7-5,8 y agar 6 g l⁻¹. Posteriormente se cultivan las microestacas o segmentos nodales en el medio básico MS a la mitad de la concentración de las sales minerales, sacarosa 20 g l⁻¹, BAP 0,05 mg l⁻¹, AG₃ 0,05 mg l⁻¹, ANA 0,02 mg l⁻¹, pH 5,7-5,8; agar 6 g l⁻¹ o phytigel 2 g l⁻¹. En el caso de los clones de musáceas para la conservación los meristemas son cultivados en MS, BA 5 mg l⁻¹, ácido cítrico 0,7 g l⁻¹ y glicina 2 mg l⁻¹ y las vitroplantas son cultivadas en MS/2, la mitad de la concentración de vitaminas y sin reguladores de crecimiento.

Palabras Clave: *Manihot esculenta* Crantz; *Musa* sp.; biotecnología; conservación *ex situ*; cultivo *in vitro*.

SUMMARY

The Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Venezuela, has as part of its objective evaluation, conservation and sustainable use of plant genetic resources of agricultural interest for the country. In this paper are presented experiences and results in the *ex situ* conservation carry out in the cassava, *Manihot esculenta* Crantz and musaceae, *Musa* sp. Gene Bank at National Center for Agricultural Research (CENIAP), specifically on *in vitro* conservation. 82 cassava clones and 99 musaceae. Clones are conserved *in vitro*. For cassava the conservation process begins with the plant regeneration from meristem culture in a Murashige Skoog (MS) culture medium, sucrose 20 g l⁻¹, BAP 0.5 mg l⁻¹, AG₃ 0.05 mg l⁻¹, NAA 0.02 mg l⁻¹, agar 6 g l⁻¹, called MY. The *in vitro* conservation consists of microcutting culture in MS to half concentration of mineral salts (MS/2), sucrose 20 g l⁻¹, benzyl amino purine (BAP) 0.05 mg l⁻¹, gibberellic acid (AG₃) 0.05 mg l⁻¹, naphthaleneacetic acid (NAA) 0.02 mg l⁻¹, pH 5.7-5.8; agar 6 g l⁻¹ or phytigel 2 g l⁻¹. In musaceae clones, the meristems are cultured in MS, BA 5 mg l⁻¹, Citric acid 0.7 g l⁻¹ and Glycine 2 mg l⁻¹, and for *in vitro* conservation, regenerated plantlets are cultured in MS/2, half concentration of vitamins and without growth regulators.

Key Words: *Manihot esculenta* Crantz; *Musa* sp.; biotechnology; *ex situ* conservation; tissue culture.

RECIBIDO: noviembre 19, 2008

INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad el ser humano dispone de los recursos genéticos para su beneficio, usando de manera descontrolada la diversidad biológica existente en el mundo. El aumento de la población y la demanda de alimentos lo impulsan a ocupar nuevos espacios con la consecuente destrucción de las especies existentes, la manipulación de otras para domesticarlas y obtener variedades homogéneas para su alimentación, trayendo como consecuencia una alta erosión genética (Jaramillo y Baena, 2000).

Aunque no se ha hecho un inventario del total de la flora presente en el mundo, se estima que existen 300 000 especies, de las cuales muchas están en peligro de extinción. Esta situación genera la necesidad de implementar estrategias para preservar la biodiversidad del planeta, tales como, el plan de acción mundial para la conservación y uso sostenible de los recursos genéticos vegetales para la alimentación y la agricultura (FAO, 2005). En consecuencia, la mayoría de los países han prestado especial interés a mantener y ampliar la base genética de las especies que existen sobre sus territorios.

Es así como en Venezuela, el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) incluye en su misión la valoración, conservación y uso sostenible de los recursos fitogenéticos de interés agrícola para el país, además de incrementar el uso actual y potencial de los mismos, a través de las actividades relacionadas con la recolección, introducción, conservación, descripción, intercambio, documentación y utilización de especies vegetales cultivadas y potenciales (Pérez *et al.*, 1998).

Dentro de las colecciones de interés agrícola nacional se encuentran los cultivos de yuca, *Manihot esculenta* Crantz y musáceas. Antes de proceder a explicar las estrategias de conservación para estos dos cultivos, es importante aclarar algunos conceptos claves sobre el tema.

Conservación de Germoplasma

Es la preservación de la diversidad genética existente en una zona determinada y debe garantizar la máxima variabilidad posible, la continuidad de uso, el ahorro de tiempo, dinero y esfuerzo. Para ello es necesario contar con información útil como: distribución, peligro de extinción y variabilidad genética de las especies. La estrategia a seguir dependerá de la naturaleza del material vegetal, y está definida por la duración de su ciclo de vida, el modo de reproducción y el tamaño de

sus individuos. Las alternativas de conservación abarcan desde los bancos de semillas hasta las áreas de reserva (CIAT, 2007).

Este método involucra una alta inversión de tiempo, personal, instalación y operación, por lo que debe justificarse en términos de necesidad real, sin tomar en cuenta deseos y conveniencias particulares de conservar un material genético. En tal sentido, las razones se deben definir de acuerdo a criterios lógicos, científicos y socio-económicos, tales como, la necesidad, el valor y el uso de las especies (CIAT, 2007).

Aunque preservar la diversidad biológica es de gran interés para la humanidad, se justifica aún más cuando se trata de especies en vías de extinción, clones élite de variedades homogéneas (de interés alimenticio) mejoradas genéticamente o especies silvestres que posteriormente pueden ser utilizadas en cruces genéticos para la obtención de nuevas variedades, mejor adaptadas al ambiente y que contribuyan a alimentar la población.

Tipos de conservación

Conservación *ex situ*: es el mantenimiento del material biológico fuera de su ambiente natural, conservado en espacios acondicionados, tales como: bancos de semillas, bancos de cultivo *in vitro*, colecciones *in vivo* (en campo, viveros o jardines botánicos), banco de genes (ADN), crioconservación, plantas provenientes de ingeniería genética.

El banco de semillas es la forma más tradicional de preservar una gran variedad de especies vegetales por grandes períodos de tiempo, principalmente si se trata de semilla ortodoxa (cereales, leguminosas comestibles y oleaginosas). Cuando se trata de ‘semilla’ asexual o sexual recalcitrante (frutales, raíces y tubérculos), se debe recurrir a otros métodos como la conservación *in vitro* a partir de diferentes tipos de tejidos (CIAT, 2007).

Lo anterior implica la generación de una gran cantidad de información que debe ser registrada o almacenada de alguna forma, es decir, debe ser documentada y se entiende por documentación al proceso de identificar, adquirir, clasificar, almacenar y difundir la información del germoplasma (CIAT, 2007).

Conservación *in vitro*: se fundamenta en el uso de técnicas de cultivo de tejidos, las cuales consisten en aislar una porción de la planta (explante) y proporcionarle aséptica y artificialmente las condiciones físicas

y químicas apropiadas para que las células expresen su potencial de regenerar una planta nueva, la cual se desarrolla en un medio de cultivo que está compuesto por macronutrientes, micronutrientes, gelificantes y compuestos orgánicos, tales como: hidratos de carbono, vitaminas, aminoácidos y reguladores del crecimiento. Así, se puede lograr la propagación masiva de plantas genéticamente homogéneas, mejoradas y libres de microbios (Argenio, 2008).

Las técnicas de cultivo *in vitro* pueden ser útiles en las diferentes etapas de la conservación *ex situ*.

Los seis grandes pasos definidos en la conservación son los siguientes:

1. Colección o adquisición del germoplasma.
2. Cuarentena, indexación de enfermedades y erradicación.
3. Propagación o multiplicación rápida.
4. Caracterización, evaluación y monitoreo.
5. Almacenamiento.
6. Distribución y utilización del material vegetal.

De esta forma se puede realizar colecta *in vitro* para facilitar el transporte de material vegetal y disminuir su riesgo de deterioro. En la cuarentena, las técnicas *in vitro* pueden erradicar la presencia de virus, bacterias y hongos mediante el uso de termoterapia o quimioterapia, seguido del cultivo de meristemas, y de esta forma el material vegetal preservado *in vitro* es de mejor calidad que el conservado en campo (Ashmore, 1997).

La multiplicación permite la propagación clonal rápida de plantas conservadas por organogénesis o embriogénesis somática. En la caracterización y monitoreo, se pueden utilizar descriptores morfológicos similares a los utilizados en campo, así como marcadores moleculares y bioquímicos, además de evaluar el potencial de regeneración (Jaramillo y Baena, 2000).

El almacenamiento *in vitro*, es particularmente útil en plantas con semillas recalcitrantes y en especies de propagación asexual, ya que ofrece gran seguridad a las colecciones de germoplasma, al protegerlas del daño que pueden causar los desastres naturales, plagas y enfermedades que puedan ocurrir en los Bancos de Germoplasma en campo. La distribución de germoplasma *in vitro* es la mejor alternativa de movilización e intercambio entre agricultores, investigadores y otros, ya que el material vegetal a transportar está libre de enfermedades (Ashmore, 1997).

Por otra parte, la conservación *in vitro* en condiciones de mínimo crecimiento es utilizada en un gran número de especies, y se trata de disminuir las condiciones tanto físicas como químicas que promueven el crecimiento vegetal, reduciendo así su metabolismo sin causarle daño. Esto se logró en cultivos tropicales de gran importancia, tales como musáceas, papa, yuca y ñame, a cargo de centros internacionales de investigación, como: Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y Plátano (siglas en inglés INIBAP), Centro Internacional de la Papa (CIP), Instituto Internacional de Agricultura Tropical (siglas en inglés IITA) y Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

El éxito de la conservación *in vitro* depende de un eficiente sistema de propagación de plantas y del control de la uniformidad genética para preservar la identidad de la especie de interés durante largos períodos de tiempo.

Experiencias de conservación de germoplasma *ex situ* de yuca y musáceas en el INIA-CENIAP

El INIA posee los Bancos de Germoplasma de yuca y musáceas más importantes en Venezuela, diseñados para preservar la variabilidad genética.

Los de yuca están ubicados en los estados: Anzoátegui, Aragua, Barinas, Monagas y Zulia (Figura 1) y el de musáceas se encuentra en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) del estado Aragua.

Banco de Germoplasma de yuca

La yuca constituye un rubro estratégico que puede contribuir a la seguridad alimentaria del país. En el año 2004 fue uno de los cultivos de importancia dentro del Plan Nacional de Semillas del INIA, y en el 2005 fue seleccionado para su mejoramiento genético, haciendo uso de técnicas biotecnológicas a través del Convenio entre el BID-FONACIT II, titulado: Fortalecimiento del Sector Biotecnológico en apoyo a la Seguridad Alimentaria del país.

En tal sentido, el INIA desarrolla y fomenta los bancos de Germoplasma de yuca, constituidos en su totalidad por 200 clones cultivados dulces y amargos producidas de colectas hechas en el país y 21 provenientes del CIAT-Colombia, sembrados en el Campo Experimental del CENIAP, con un clima seco tropical, latitud 10° 15'N, longitud 67° 36 W, altura 450 m.s.n.m., precipitación promedio anual 1 179,2 mm y se mantienen mediante plantaciones repetidas anualmente, utilizando el material vegetativo del año anterior.

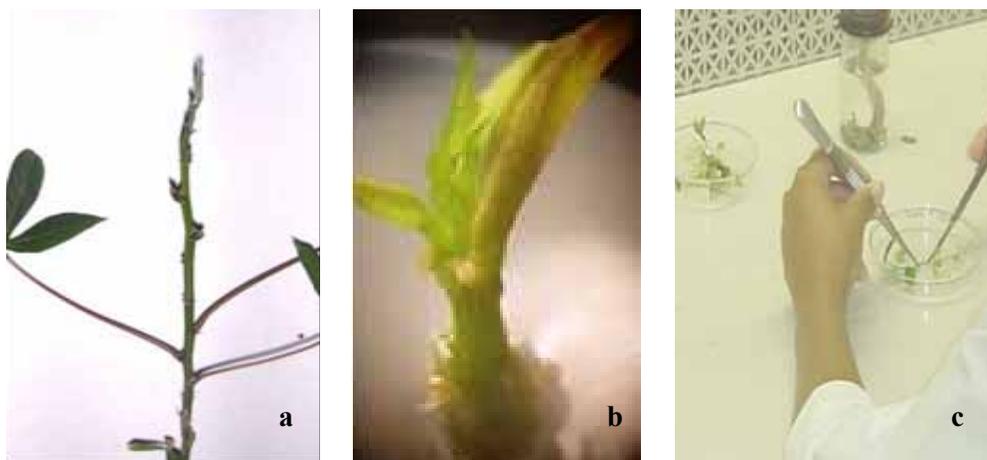


FIGURA 1. a) Zona apical de una planta de yuca utilizada como fuente de explante; b) brote obtenido a partir del cultivo de meristema *in vitro*; c) extracción de meristemas o microestacas en condiciones asépticas.

Los clones se caracterizaron y evaluaron a través de descriptores bioquímicos, moleculares y morfológicos, encontrándose que no existen duplicados en el Banco de Germoplasma de yuca del CENIAP (Schmidt *et al.*, 2003; Demey *et al.*, 2003).

Banco de Germoplasma *ex situ* de Musáceas

Musaceae es una familia de vital importancia, pues en los ámbitos comercial, agronómico y nutricional, representan una parte importante en el desarrollo de distintas comunidades de América. Específicamente en Venezuela, es considerada como un rubro estratégico y su importancia se refleja en las estimaciones del consumo por persona al año. En el caso del cambur (banano) es de aproximadamente 33 kg, mientras que en el plátano es de unos 20 kg per año⁻¹. Estos rubros aportan valores cercanos al 50% del volumen total de frutas producidas en el país y son considerados elementos primordiales en la dieta del pueblo venezolano (Martínez, 2003).

El banco de musáceas está compuesto por 110 clones: 12 diploides, 91 triploides y siete tetraploides. Estos clones son cultivados y silvestres, algunos de colectas hechas en el país y otros provenientes del intercambio de germoplasma con la Red para Mejoramiento del Banano y el Plátano (siglas en inglés INIBAP), reflejados en el Cuadro 1. Ambas colecciones están sembradas en el Campo Experimental del CENIAP, bajo las condiciones anteriormente descritas y caracterizadas morfológicamente a través de los descriptores del Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI-INIBAP, siglas en inglés).

CUADRO 1. Grupos genómicos, tipos y números de clones presentes en el Banco de Germoplasma de Musáceas.

Grupo genómico	Tipo	Nº de clones
Diploides	AA s	2
	AA cv	8
	BB s	2
Triploides	AAA	41
	AAB	37
	ABB	11
	BBB	2
Tetraploides	AAAA	2
	AAAB	3
	AABB	2
TOTAL		110

s= silvestre; cv= cultivado

Conservación *in vitro* de recursos fitogenéticos en la Unidad de Biotecnología del CENIAP

Conservación *in vitro* de yuca: la yuca es una especie perenne de gran importancia económica. La semilla es altamente heterocigota y la única forma de mantener un genotipo deseado es mediante propagación vegetativa. En tal sentido, es necesario resguardar los materiales seleccionados para cultivo y para futuros programas de mejoramiento genético. Las técnicas de conservación *in*

in vitro constituyen una buena alternativa de preservación para esta especie. Cerca de 5 000 estacas de yuca fueron resguardadas en medio de cultivo de lento crecimiento, constituyendo una fuente segura de plantas sanas que complementan las colecciones de campo (Ashmore, 1997).

Cultivo de meristemas: el primer paso para la conservación *in vitro* de yuca consiste en el cultivo de meristemas para el saneamiento de clones, realizado mediante la utilización de estacas entre 10 y 15 cm, provenientes de Bancos de Germoplasma de INIA Anzoátegui, Aragua, Barinas, Monagas o Zulia.

Las estacas colectadas son cortadas en secciones que contengan dos nudos, desinfectadas con fungicida y bactericida, sembradas en materos con sustrato de arena, tierra y aserrín de coco en la proporción 1:1:1; estas fueron regadas y fertilizadas cada 2 d. Transcurrido un mes se extraen los brotes apicales (Figura 1a y b), se desinfectan en el laboratorio con una solución jabonosa, alcohol al 70% por 3 min, hipoclorito de sodio 2,5% v/v por 30 min en una campana de flujo laminar, y por último se enjuagó tres veces con agua destilada estéril.

Se procedió a extraer el meristema bajo un microscopio estereoscópico (Figura 2c) y se sembraron en un medio de cultivo que contenía las sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962), sacarosa 20 g l⁻¹, Bencilaminopurina (BAP) 0,05 mg l⁻¹, Ácido Giberélico (AG₃) 0,05 mg l⁻¹, Ácido Naftalen-acético (ANA) 0,02 mg l⁻¹, Hidrolizado de caseína 0,1 g l⁻¹, pH 5,7-5,8 y agar 6 g l⁻¹, denominado MY. Luego se incubaron en un cuarto climático a 27 ± 1 °C de temperatura durante 15 d en oscuridad y posteriormente se coloca condiciones de fotoperíodo de 16 h diarias de iluminación. Todas estas condiciones específicas fueron determinadas en la Unidad de Biotecnología del CENIAP.

Después de dos meses de cultivo el porcentaje de regeneración de vitroplantas a partir de meristemas varió dependiendo del genotipo. De esta manera, Albarrán *et al.* (2006), obtuvieron brotes arrosados (0,6-1,3%), callos friables (1,4-7,0%) y plantas normales (21,0-42%). Se puede mejorar el crecimiento de las plantas arrosadas cultivándolas en el medio MY, aumentando 10 veces la concentración de BAP (0,5 mg l⁻¹) y eliminando el hidrolizado de caseína.

Cumplidos dos ciclos de cultivo, los clones de yuca V2, V3 y V4 provenientes del INIA-Monagas, así como Morichalera, UCV-2076 y C4-UCV-01 del Banco de Germoplasma del INIA-CENIAP, presentaron un 100%

de regeneración de plantas vigorosas con tallos verdes y hojas bien expandidas (Figura 2). Actualmente, mediante esta técnica se mantienen 61 clones de yuca de interés agronómico procedente de las cinco regiones, como se observa en el Cuadro 2. Estos clones están disponibles para su multiplicación *in vitro* y posterior distribución en fincas productoras del país.



FIGURA 2. Planta regenerada *in vitro* a partir del cultivo de meristemas.

El material vegetal obtenido por esta vía ofrece altas probabilidades de estar libre de virus y bacterias y constituye para el agricultor una ‘semilla’ de excelente calidad, siendo de gran interés preservarla tanto en colecciones de campo como *in vitro*.

Conservación a partir del cultivo *in vitro* de segmentos nodales en medio de mínimo crecimiento

Una vez obtenidas las vitroplantas a partir del cultivo de meristemas se puede conservar el material vegetal por tiempo indefinido, mediante el cultivo de segmentos nodales o microestacas en el medio básico MS a la mitad de la concentración de las sales minerales, sacarosa 20 g l⁻¹, BAP 0,05 mg l⁻¹, AG₃ 0,05 mg l⁻¹, ANA 0,02 mg l⁻¹, pH 5,7-5,8; agar 6 g l⁻¹ o phytigel 2 g l⁻¹. Luego se incuban en un cuarto climático a 26 ± 1 °C de temperatura, durante cuatro meses en condiciones de fotoperíodo con luz blanca a intensidad de 49 μmol m² s⁻¹ (Figura 3).

CUADRO 2. Clones de yuca conservados *in vitro* a partir de meristemas provenientes de varios estados del país.

Localidad	Clones de yuca		
Barinas	2596	M88	Sardina
	2576	Taguanes	
	12	Concha rosada	
Anzoátegui	8	36	30
	14	39	42
	18	61	32
	165-7	58	42
	44	40	29
Monagas	V1	4	8
	V2	6	3
	V3	17	14
	V4	15	13
	10	5	16
	7		
Zulia	3	10	8
	5	11	9
	6	13	21
Aragua	Lengua de pájaro	Motilona	C4-UCV-01
	Morichalera	Meven 160	Sardina
	Cubana	Meven 162	CIAT II
	Las Vegas	Bolívar 32	Tasajera
	UCV 2076	Bolívar 42	

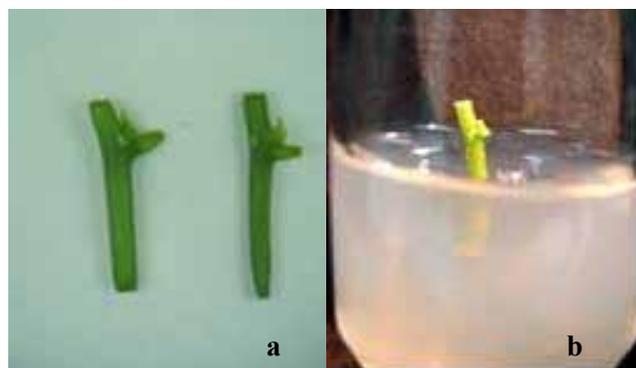


FIGURA 3. a. Microestacas o segmentos nodales de yuca utilizados para conservación *in vitro*; b. Microestacas cultivadas en tubo de ensayo con medio de cultivo de mínimo crecimiento.

Transcurridos cuatro a cinco meses, las plantas regeneradas son divididas en varios segmentos nodales para un nuevo ciclo de cultivo o renovación del Banco de Germoplasma *in vitro* (Figura 4).

Este procedimiento se fundamenta en un control químico donde se disminuye la concentración de las sales minerales y fuentes de carbono del medio de cultivo para reducir la tasa de crecimiento de las plantas. De manera complementaria se puede utilizar un control físico bajando la temperatura para retardar más el crecimiento. Sin embargo, en yuca, como se trata de un cultivo tropical, temperaturas inferiores a 24 °C pueden causar daño en el tejido vegetal en condiciones *in vitro*.

El Banco de Germoplasma de yuca *in vitro* se caracterizó morfológicamente en campo (Marín *et al.*, 2008), ofreciendo resultados interesantes para la selección de los mejores genotipos en cuanto a rendimiento y contenido de ácido cianhídrico en las condiciones agroclimáticas de Maracay. Igualmente, estos genotipos se utilizaron en los ensayos regionales con la finalidad de seleccionar aquellos que mejor se adapten en las condiciones agroclimáticas de las diferentes zonas productoras del país.



FIGURA 4. Banco de Germoplasma de cultivo *in vitro* de yuca.

Además de la conservación de los 61 clones colectados en el país y señalados en el Cuadro 2, se mantienen en conservación *in vitro* 21 clones de yuca provenientes del CIAT (Cuadro 3).

Uso de reguladores osmóticos para la conservación en condiciones de mínimo crecimiento

Con la finalidad de aumentar los períodos de tiempo de conservación *in vitro* del material vegetal de yuca

sin afectar su viabilidad o potencial de regeneración, se pueden utilizar reguladores osmóticos, que consisten en fuentes de carbono como la sacarosa y el manitol o sorbitol, a concentraciones que contribuyan a disminuir el metabolismo celular pero que no sea letal para los explantes en cultivo.

En los clones de yuca como el BRA-383, CM 7073-7 y C-17, se obtienen buenos resultados extendiendo el tiempo de conservación de cuatro a seis meses utilizando concentraciones de sacarosa 0,18 M, manitol y sorbitol 0,05 M agregados al medio de cultivo (Rengifo *et al.*, 2005).

CUADRO 3. Clones de yuca provenientes del CIAT (Colombia), conservados *in vitro* en el Banco de Germoplasma del CENIAP.

BRA 383	CM 4843-1	CM 7514-7
PER 183	CM5306-8	CM 7514-8
TAI 8	CM 6119-5	CM 8027-3
CM 507-37	CM 6438-14	SM 805-15
CM 523-7	CM 6740-7	SM 909-25
CM 3306-4	CM6921-3	SM 1565-15
CM 4574-7	CM7073-7	Mcol 2063

Multiplicación *in vitro* de clones promisorios de yuca

Para la multiplicación *in vitro* se utilizan segmentos nodales provenientes de las plantas conservadas *in vitro*. El medio de cultivo está compuesto por el medio básico de cultivo de MS (1962) con las siguientes modificaciones: la tiamina a la mitad de su concentración y se duplica la concentración de la solución de hierro; se agrega ANA 0,02 mg l⁻¹ y agar 7 g l⁻¹. El pH del medio de cultivo se ajusta a 5,8 previo a la adición del agar.

Después de dos meses de cultivadas las microestacas o segmentos nodales, se obtienen plantas desarrolladas (con vástagos y raíces) listas para ser aclimatadas. Las plantas regeneradas adquieren buen vigor y una longitud del tallo que varía entre 3 y 10 cm. Durante el período de cultivo se debe controlar la aparición de agentes contaminantes en los frascos de cultivo y eliminarlos inmediatamente.

Para la aclimatación, las vitroplantas se colocan en una solución nutritiva rica en nitrógeno, fósforo y potasio (Guo y Liu, 1994) durante 7 d y se colocan las bandejas en una zona del umbráculo con exposición indirecta a la luz solar. Esta solución nutritiva promueve el crecimiento vigoroso de las plantas.

Luego las plantas se siembran y se mantienen en condiciones de umbráculo durante 22 a 30 d en materos conteniendo sustrato estéril compuesto de aserrín de coco, tierra y arena en la proporción 1:1:1 y se le agrega fertilizante foliar. De esta manera se han propagado 30 clones élites con alto porcentaje de regeneración *in vitro* y en campo. Marín *et al.* (2009), uso combinaciones de ANA 0,02 mg l⁻¹ y AG₃ 0,05 mg l⁻¹ en cinco clones élites obteniendo buenos resultados de regeneración.

Conservación *in vitro* de Musáceas: Se mantiene un duplicado de la colección de musáceas presente en el campo experimental del CENIAP mediante el uso de técnicas de cultivo *in vitro*, con el objetivo de disponer de una réplica del Banco de Germoplasma en caso de pérdida de dichos materiales por la acción de factores ambientales, plagas y enfermedades, y para realizar la propagación acelerada de clones de interés que puedan ser utilizados en programas de mejoramiento genético y en el intercambio de germoplasma con otras instituciones nacionales e internacionales.

Metodología de regeneración *in vitro*

La regeneración de plantas se inicia con la siembra de meristemas *in vitro*, que son extraídos de los hijos más jóvenes entre 15 y 30 cm con tres hojas, tomados de los clones mantenidos en la colección de campo del CENIAP. Los hijos son llevados al laboratorio donde se corta la sección de tallo que contiene la yema apical, de un tamaño aproximado de 2 x 4 cm. Este explante se desinfecta con alcohol al 70% durante 1 min y posteriormente en una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 30 min. y por último se enjuagan tres veces con agua destilada estéril. La siembra de los meristemas se realiza en condiciones de asepsia, en un medio de iniciación M1.

Estos cultivos son mantenidos en condiciones de oscuridad durante una semana, luego son transferidos a condiciones de iluminación (16 h de luz y 8 h de oscuridad) a una temperatura de 26 ± 2 °C, donde se inicia el proceso de multiplicación de los brotes en el medio M1. Una vez observada la formación de brotes, estos son cultivados en un medio sin reguladores de crecimiento para inducir la formación de raíces (M2), mostrado en el Cuadro 4 utilizando el proceso de cultivo *in vitro*.

CUADRO 4. Medios de cultivo utilizados durante el proceso de regeneración y conservación de clones de *Musa*.

Medio de cultivo	Sales minerales	Vitaminas	Reguladores de crecimiento	Otros
Iniciación y multiplicación (M1)	Murashige y Skoog (1962)	Mio-inositol: 100 mg l ⁻¹ Tiamina: 0,2 mg l ⁻¹ Piridoxina: 0,5 mg l ⁻¹ Ácido nicotínico: 0,5 mg l ⁻¹	BA 5 mg l ⁻¹	Ácido cítrico 0,7 g l ⁻¹ Glicina 2 mg l ⁻¹
Enraizamiento (M2)	Murashige y Skoog (1962)	Ácido nicotínico: 0,5 mg l ⁻¹		Ácido cítrico 0,7 g l ⁻¹ Glicina 2 mg l ⁻¹
Conservación (M3)	½ Murashige y Skoog (1962)	Ácido nicotínico: 0,25 mg l ⁻¹		

El proceso de regeneración de plantas depende del tipo de explante y se logra a través de dos vías: organogénesis y embriogénesis somática, mediante el cultivo *in vitro* de flores masculinas y femeninas y yemas apicales (Schoff *et al.*, 1998; Novak *et al.*, 1989; Cronauer-Mitra, 1988; Coté *et al.*, 1996).

En el caso de los clones de Musáceas, la regeneración a partir de meristemas o yemas apicales es variable dependiendo del clon. Estos materiales inician el proceso de desarrollo del brote en un período que va entre 70 y 100 d en el medio de multiplicación, la presencia de abundante fenoles en el explante en algunos clones afecta el desarrollo de los brotes. Aproximadamente un 70% de los explantes sembrados desarrollan plantas (Figura 5).

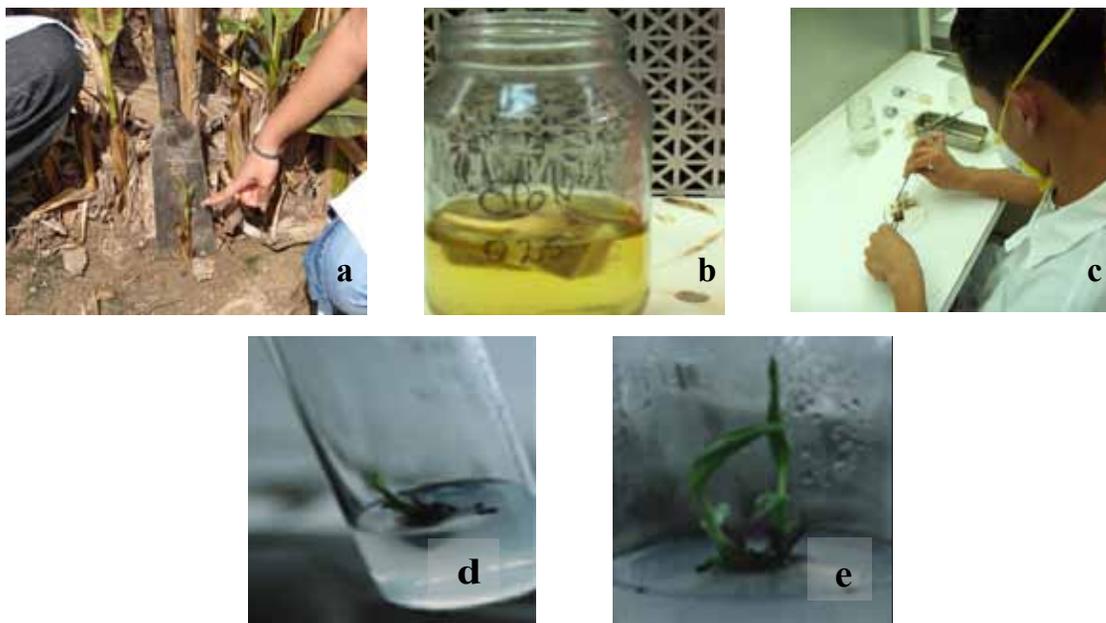


FIGURA 5. a. Hijo de musácea extraído en campo; b. desinfección de explantes; c. siembra en campana de flujo laminar; d. iniciación; e. multiplicación de brotes.

Conservación *in vitro*

La conservación *in vitro* de las plantas de los clones de Musáceas se realiza en un medio de cultivo con la **mitad** de la agrupación de las sales de MS (1962), y las vitaminas y sin reguladores de crecimiento (M3).

Las plantas son mantenidas en un cuarto de crecimiento a una temperatura entre 15 y 18 °C bajo las mismas condiciones de luz utilizadas durante el proceso de regeneración. Esta metodología permitió disminuir el desarrollo de los mismos, medio de cultivo por un período de hasta seis meses sin afectar su viabilidad. Igualmente, se conserva una réplica del 90% de los clones de musáceas del Banco de Germoplasma del CENIAP. Esta técnica permite mantener los cultivos en crecimiento restringido a corto y a largo plazo (Figura 6).



FIGURA 6. Brotes de musáceas enraizados y mantenidos en medio de conservación.

CONCLUSIONES

Las técnicas de conservación y multiplicación *in vitro* le han permitido al INIA:

- Mantener de manera segura los Bancos de Germoplasma de yuca y musáceas.
- Facilitar el intercambio seguro de germoplasma con otros centros de investigación nacional o internacional.
- Suministrar a los productores los mejores clones libres de patógenos a través del Plan Nacional de Semilla.

- Desarrollar metodologías de conservación y multiplicación *in vitro* en el Laboratorio de Biotecnología que permiten multiplicar masivamente plantas de musáceas y yuca; colocándolas a disposición del Plan Nacional de Semillas.

BIBLIOGRAFÍA

- Albarrán, J. G., F. Fuenmayor, A. Y. Zambrano, B. Delgado, L. Vaccarino, J. Montilla, L. Zarrameda, N. Moreno y M. Pérez. 2006. Cultivo *in vitro* de meristemas de yuca de interés agronómico provenientes de cinco regiones productoras de Venezuela. **In:** First International Meeting on Cassava Breeding, Biotechnology and Ecology. Book of abstracts. R. Ortiz y N. Nassir (eds.). Brasilia, Brasil. 47 p.
- Ashmore, S. 1997. Status report on the development and application of *in vitro* techniques for the conservation and use of plant genetic resources. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 67 p.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 2007. Multi-Institutional Distance Learning Course on the *ex situ* Conservation of Plant Genetic Resources. (En línea). CIAT publication N° 360, Palmira, Colombia. 235 p. (Consultado en: 18 ago 2008). Disponible en: http://www.ciat.cgiar.org/ccc/pdf/Course_Ex_Situ/contents.pdf
- Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología (Argenbio). 2008. Por qué Biotecnología. (En línea). (Consultado en 20 ago. 2008). Disponible en: <http://www.argenbio.org>.
- Cotê, F., R. Domenguer, S. Monmarson, J. Schewendiman, C. Teisson and J. Escalant. 1996. Embryogenic cell suspensions from the male flower of *Musa* AAA. *Physiologia Plantarum* 97:285-290.
- Cronauer-Mitra, S. 1988. Plant regeneration via somatic embryogenesis in the seeded diploid banana *Musa Ornate* Roxb. *Plant Cell Reports*. 7:23-25.
- Demey, J., A. Y. Zambrano, F. Fuenmayor y V. Segovia. 2003. Relación entre caracterizaciones molecular y morfológica en una colección de yuca. *INTERCIENCIA*. 28(12):684-689.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2005. The global strategy for plant conservation. Commission

- on genetic resources for food and agriculture. Working group on plant genetic resources for food and agriculture (En línea). Third Session, Rome. (Consultado en 17 ago. 2008). Disponible en: <http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGP/AGPS/PGR/ITWG3RD/pdf/p3i3E.pdf>
- Hawkes, J. G., N. Maxted and B. V. Ford-Lloyd. 2000. The *ex situ* conservation of plant genetic resources. Kluwer Academic Publishers.
- Jaramillo, S. y M. Baena. 2000. Conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos. Material de Apoyo a la Capacitación en Conservación *ex situ* de Recursos Fitogenéticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Grupo Américas. 102 p.
- Lemos, E., M. Ferreira and L. Alencar. 2002. *In vitro* conservation of sugarcane germplasm. Pesq. agropec. bras. (En línea). [Consultado en 26 abr. 2008], 37(10):1.359-1.364. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2002001000002&lng=en&nrm=iso
- Marín, A., D. Perdomo, J. G. Albarrán, F. Fuenmayor y C. Zambrano. 2008. Evaluación Agronómica, Morfológica y Bioquímica de clones élites de yuca a partir de Vitroplantas. INTERCIENCIA. 33(5):365-371.
- Martínez, G. 2003. Banco de germoplasma de musáceas del CENIAP (En línea). Seminarios CENIAP. (Consultado en 18 ago. 2008). Disponible en: <http://www.ceniap.gov.ve/seminarios/gmartinez.htm>.
- Murashige, T y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiology Plant. 15:473-497.
- Novak, F., R. Akza, V. Duren and M. Pera-Dallos. 1989. Somatic embryogenesis and plant regeneration in suspensions cultures of dessert (AA and AAA) and cooking (ABB) bananas (*Musa* spp.). Biotechnology 7:147-158.
- Pérez, D., M. Gutiérrez, E. Mazzani, T. Barreto, V. Segovia y C. Marín. 1998. Recursos fitogenéticos de Venezuela. Maracay, Venezuela, Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 93 p. (Serie C Nº 42).
- Schmidt, A., F. Fuenmayor y M. Fuchs. 2003. Caracterización de clones de yuca (*Manihot esculenta*) mediante marcadores protéicos e isoenzimáticos. INTERCIENCIA. Vol. 28(12):690-698.
- Rengifo, J., J. G. Albarrán, A. Y. Zambrano, F. Fuenmayor, E. Castillo, B. Delgado y P. González. 2005. Optimización de las condiciones de conservación *in vitro* en clones de yuca seleccionados por sus características agronómicas. **In:** Encuentro Red de Biotecnología Agroalimentaria de Venezuela (REDBIO Venezuela). Resumen. Maracay, Venezuela.
- Schoofs, H., B. Pains and R. Swennen. 1998. Competence of scalps for somatic embryogenesis in *Musa*. Proceedings International Symposium Banana in Subtopics. Ed. V. Galan Saucó. **In:** Acta Horticulturae. 490 p.

AGRONOMÍA TROPICAL

Revista del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Venezuela Instrucciones para los Autores

Agronomía Tropical publica trabajos originales producto de la investigación en el área de la agronomía. Se reconocen por trabajos originales aquellos que son producto de la investigación o experimentación, que tienen como objetivo concreto, desarrollar nuevos conceptos o tecnologías y adaptar las existentes a las condiciones locales.

El envío de trabajos a la revista científica **Agronomía Tropical** implica que no han sido presentados para su publicación en otra revista.

Los trabajos cortos, que describen técnicas experimentales, equipos, fenómenos naturales, o especies nuevas, serán publicados en la revista como notas técnicas. También se aceptan reseñas de libros recientemente publicados.

Artículo

Se requiere que sea transcrito en el programa MS Word, Open Office Writer, a doble espacio utilizando márgenes de 4 cm en la parte superior y 3 cm en los demás lados. Las páginas deben ser numeradas consecutivamente. La versión final del trabajo, en la cual se han acogido las observaciones de los revisores, debe remitirse por correo electrónico.

Los artículos pueden enviarse vía correo electrónico a la dirección de la revista: agrotrop@inia.gob.ve, agrotropic@yahoo.com.

La secuencia en la presentación de un trabajo es como sigue: título, autor(es), resumen, palabras clave, introducción la cual debe incluir la revisión de literatura, materiales y métodos, resultados y discusión, conclusiones (si las hubiere), resumen (summary) y título en inglés, agradecimiento (si hubiere), bibliografía.

Los títulos de cada una de las partes del trabajo deben insertarse en el texto en letras mayúsculas y en el centro de la página.

La extensión del trabajo no debe exceder de 25 páginas a doble espacio, incluyendo en ellos cuadros, figuras y referencias. Junto al artículo es necesario anexar una

carta de Fe, donde se declare que el trabajo no ha sido presentado en ningún otro medio.

Una vez aceptado el artículo se le enviará la comunicación oficial de aprobación con la ubicación relativa donde será incluido en la revista *Agronomía Tropical*.

Título. Escrito en letras mayúsculas, debe ser claro y conciso, procurando no excederse de 20 palabras. Debe identificar y describir concretamente el contenido del trabajo, sin abreviaturas. Sólo deben incluirse los nombres comunes de plantas, insectos, etc., cuando se requiere, dejando como palabra clave el nombre científico de los mismos.

Autor(es). Primer nombre completo, inicial del segundo y apellidos completos. Después de los nombres se usarán asteriscos (*) para identificar el cargo, la institución, dirección postal donde trabajan y correo electrónico. Debe usar el nombre completo de la institución con la abreviatura o siglas entre paréntesis. Igualmente, puede identificarse, si es necesario, la institución que financió el trabajo, o si es parte de una tesis de grado.

Resumen. Debe tener un máximo de 250 palabras (150 para las notas), en un sólo párrafo. Específicamente debe exponer cuál es el objetivo del trabajo, cómo se realizó, los resultados cuantitativos más relevantes, porqué son relevantes, y la conclusión. Los entes biológicos y los suelos deben ser identificados por sus nombres científicos cuando son mencionados por primera vez en el resumen, en el summary y la primera vez que aparezcan en el cuerpo del trabajo, tanto en castellano como inglés, y no deben repetirse en el cuerpo del artículo.

Palabras Clave. Son aquellas que permiten identificar el tópico que se discute en el texto y que faciliten la elaboración del índice de materias, tratando de no repetir las que se usen en el título. Debe incluir los nombres científicos de los entes biológicos.

Introducción. Debe estar formada por una breve referencia de los antecedentes que motivaron a la realización del trabajo; igualmente puede incluirse la revisión de literatura con las investigaciones más recientes que aporten ideas fundamentales para la realización del

trabajo. También incluirá el objetivo del mismo. Para las referencias bibliográficas se usará el sistema de apellidos del primer autor y el año de publicación.

Materiales y Métodos. La presentación debe ser clara y concreta, siguiendo un ordenamiento lógico de las técnicas empleadas en la investigación y los materiales utilizados. Los procedimientos analíticos y estadísticos usados deberán ser descritos claramente o citados como referencias bibliográficas.

Resultados y Discusión. Esta sección debe satisfacer los objetivos que se señalaron en la introducción, manejando la información cuantitativa a través de cuadros o figuras a fin de transmitir en forma clara el significado de los resultados obtenidos. Es necesario el uso de la estadística para verificar la validez de los resultados, cuando así se requiera. La discusión de los datos deberá hacerse basada en los soportes disponibles en la literatura.

Agradecimiento. Se utilizarán para reconocer a aquellas personas que han hecho contribuciones sustanciales al trabajo o han prestado asistencia técnica. Asimismo, para reconocer a las instituciones que han brindado apoyo financiero a la investigación se debe indicar la llamada con el número 1 al terminar el título, e incluyéndose debajo de los autores.

Cuadros. Cada cuadro se presentará en archivo separado del texto, haciendo alusión en el texto. El contenido de los cuadros no debe ser duplicado en las figuras. Los asterísticos se usarán para mostrar el nivel de significancia estadística de 0,05 (*), 0,01 (**) y 0,001 (***); los asteriscos deben ir acompañados del nombre de la prueba estadística realizada. Para otras llamadas deberán utilizarse otros símbolos. El título del cuadro debe ser concreto y expresar el contenido del mismo. Los cuadros deben ser elaborados utilizando la tabla del programa Words, Harward Graphic o Excel. No es deseable los cuadros escaneados, de tal manera que cuando se requiere pueda ser modificado en la oficina de edición de la revista

Figuras. Se entiende por figura cualquier ilustración que se incluya en el trabajo (gráficos, dibujos, fotografías, esquemas, mapas). Estas no deben ser una duplicación de la información de los cuadros. En cuanto a los gráficos (líneas, barras, tortas...) se recomienda utilizar los programas Power Point, Harward Graphic o Excel, con la información adjunta la cual se elabora la ilustración. No es deseable usar letras mayúsculas en la leyenda y debe colocarse en la parte inferior de la figura.

En caso de usar fotografías, las leyendas se describirán con el respectivo número de la figura. Para las fotografías y otros dibujos digitalizados, deberán procesarse en formato JPEG, TIFF (cmyk) de tal manera que cuando se requiere pueda ser modificada al momento de diagramar. No use innecesariamente figuras tridimensionales.

Debe evitar el uso del color en los gráficos y demás figuras, ya que esto encarece la edición de la revista. De requerirse el uso del color en las fotografías, agrúpelas y enumérelas secuencialmente.

Bibliografía. Sólo deben ser incluidas publicaciones que estén disponibles en las bibliotecas; las comunicaciones personales serán citadas en el texto al pie de página indicando el nombre completo, la dirección del autor de la comunicación y el año en que se produjo. Las citas bibliográficas deben ser ordenadas alfabéticamente siguiendo el esquema:

- **Artículos de revistas:** autor(es), colocar el apellido del primer autor y luego la inicial del nombre, para los otros autores, primero la inicial del nombre y luego el apellido (en mayúscula); año de la publicación; título del artículo; abreviatura del nombre de la revista; volumen; página inicial y final del artículo.

- **Libros y folletos:** autor(es), año de la publicación, título, editor o traductor, número de la edición, lugar de la publicación (ciudad), casa editorial, paginación y serie.

- **Artículos en una publicación colectiva:** autor(es), año de la publicación, título del artículo, preposición latina In subrayada o en negrita, y seguida de dos puntos (:) y luego la referencia completa del libro.

- **Tesis:** autor, año, título, la palabra tesis, el grado académico en forma abreviada y en el mismo idioma en que está redactada la tesis, ciudad, país, universidad, facultad y número de páginas.

Dos o más artículos del mismo autor(es) deben ser ordenados cronológicamente, en caso de ser del mismo año debe usarse letras minúsculas a, b, c, d, etc.

Revisión de los artículos. La revista garantiza la confidencialidad en el proceso de revisión de los trabajos por parte de especialistas reconocidos.

Estilo. Los entes biológicos deben ser identificados por sus nombres científicos completos (binomial) en el título (cuando se requiera así como en el resumen, summary y la primera vez que se mencionan en el cuerpo de trabajo.

Los nombres de productos comerciales deben evitarse, prefiriéndose el nombre genérico. Cuando ello sea posible utilícelo seguido del símbolo®.

Los nombres de las variedades, cultivares e híbridos deberán acompañarse de virgulillas o comillas simples sólo cuando se mencionen por primera vez en el resumen, en el summary y en el cuerpo del artículo.

Los suelos deben ser identificados taxonómicamente; si el nombre de la serie no es muy conocido deberá señalarse la familia.

Los símbolos no tienen plural ni llevan punto (.) después de ellos, y sólo se escriben en mayúsculas aquellos derivados de nombre propios Celsius, Kelvin, Joule.

Los decimales deben separarse con coma (,) y no con punto (.). Las unidades de mil o millón se indicarán con un espacio en blanco.

La abreviatura correspondiente a Agronomía Tropical es Agronomía Trop.

Para más detalles de estilo y presentación obsérvese los últimos números de la revista.

Los símbolos a usar son:

	Símbolo/abrev.	reemplaza
metro,	m,	
kilómetro,	km (10 ³ m)	
decímetro,	dm	
centímetro,	cm (10 ⁻² m)	
milímetro,	mm (10 ⁻³ m)	
micra	μ	
micromilímetro,	μm (10 ⁻⁶ m)	microm
nanómetro,	nm (10 ⁻⁹ m),	Angstrom
metro cuadrado,	m ²	
hectárea,	ha	
metro cúbico,	m ³	
litro,	l	
gramo,	g	
kilogramo,	kg	
tonelada,	t	
mega gramo,	Mg,	
miligramo,	mg (10 ⁻³ g)	
microgramo,	μg (10 ⁻⁶ g)	
nanogramo,	ng (10 ⁻⁹ g)	
kilogramo/hectárea,	kg ha ⁻¹	
toneladas/hectárea,	t ha ⁻¹	

megapascal,	M Pa,	bar
grado Celsius,	°C	
grado Joule,	J,	caloría
grado Kelvin	°K	
centimole por kilogramo,	c mol kg ⁻¹ ,	meq por 100g
gramo por kilogramo,	g kg ⁻¹	
miligramo por kilogramo,	mg kg ⁻¹ ,	ppm
metro sobre el nivel del mar	m.s.n.m.	

La revista proporcionará gratis a los autores 25 separatas de sus trabajos.

Para reproducir un material o parte de él, deberá obtenerse el permiso de la revista.

El artículo debe ser enviado al Editor Regional (investigador INIA) o al Editor de Agronomía Tropical, a través del correo electrónico: agrotrop@inia.gob.ve, agrotropic@yahoo.com, acompañado con una comunicación, la cual se señale el autor a quién deberá dirigirse la correspondencia, su dirección, teléfonos de oficina y domicilio o correo electrónico, además, la firma del autor y uno de los coautores del trabajo. También, puede entregarlo en el Edificio INIA, Av. Universidad, vía El Limón. Maracay, estado Aragua. Venezuela.

Para suscripción. Realizar depósito según el monto del volumen completo, más costo de envío al Banco Mercantil, Cuenta Corriente N° 0105-0100-84-1100095039 a nombre del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. INIA-Gerencia General.

Composición: Carmen Elena Solórzano
Montaje: José Alejandro Sul
Fotolito: Mario Pino
Impresión: Eliseo Silva y Wilmer Gallardo

Impreso en el Taller Gráfico del INIA
Maracay, estado Aragua, Venezuela
Junio 2012

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical